

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ – ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ**

**ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ  
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ**

**ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ  
ΥΔΑΤΩΝ ΚΑΙ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΘΕΜΑ: «ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΡΙΝΙΚΗΣ ΦΟΡΕΙΑΣ ΑΡΝΗΤΙΚΩΝ  
ΣΤΗΝ ΠΗΚΤΑΣΗ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΩΝ ΦΟΙΤΗΤΩΝ ΤΟΥ  
ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΤΟΥ Α.Π.Θ.»**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ:  
ΧΑΣΙΩΤΗ ΜΑΡΚΕΛΛΑ ΤΟΥ ΕΥΘΥΜΙΟΥ  
ΚΤΗΝΙΑΤΡΟΣ Α.Π.Θ.**

**ΛΑΡΙΣΑ 2016**

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ – ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ**

ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ  
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ

ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ  
ΥΔΑΤΩΝ ΚΑΙ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΘΕΜΑ: «ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΡΙΝΙΚΗΣ ΦΟΡΕΙΑΣ ΑΡΝΗΤΙΚΩΝ  
ΣΤΗΝ ΠΗΚΤΑΣΗ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΩΝ ΦΟΙΤΗΤΩΝ ΤΟΥ  
ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΤΟΥ Α.Π.Θ.»**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ:  
**ΧΑΣΙΩΤΗ ΜΑΡΚΕΛΛΑ ΤΟΥ ΕΥΘΥΜΙΟΥ**  
**ΚΤΗΝΙΑΤΡΟΣ Α.Π.Θ.**

**ΛΑΡΙΣΑ 2016**

## **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**ΣΕΡΓΚΕΛΙΔΗΣ ΔΑΝΙΗΛ**

Επίκουρος Καθηγητής Υγιεινής Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης Τμήματος  
Κτηνιατρικής Α.Π.Θ.  
(Επιβλέπων Καθηγητής)

**ΜΑΛΙΣΙΟΒΑ ΕΛΕΝΗ**

Καθηγήτρια Εφαρμογών ΤΕΙ Λάρισας

**ΧΑΤΖΗΧΡΙΣΤΟΔΟΥΛΟΥ ΧΡΗΣΤΟΣ**

Καθηγητής Υγιεινής και Επιδημιολογίας Τμήματος Ιατρικής  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

***Στους γονείς μου  
και στην αδερφή μου  
που είναι πάντα δίπλα μου***

## ΤΙΤΛΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ:

Διερεύνηση της ρινικής φορέας αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων των φοιτητών του τμήματος Κτηνιατρικής του Α.Π.Θ.

## ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΙ ΟΡΟΙ:

Ρινική φορεία, αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι MALDI-TOFF.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι σταφυλόκοκκοι είναι θετικοί κατά gram βακτήρια. Μπορούν να διαχωριστούν με βάση την παρουσία του ενζύμου πηκτάση. Στους θετικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους ανήκουν οι *S. aureus*, *S. hyicus*, *S. schleiferi*, *S. intermedius*, *S. pseudintermedius*, *S. delphini* και *S. lutrae*. Οι πηκτάση αρνητικοί σταφυλόκοκκοι κατατάσσονται σε 34 είδη: Ορισμένα από αυτά τα είδη είναι τα εξής: *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. capitis*, *S. cohnii*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. lugdunensis*, *S. saccharolyticus*, *S. simulans*, *S. warneri*, *S. xylosus*, *S. aelettae*, *S. auricularis*, *S. caprae*, *S. carnosus*, *S. caselyticus*, *S. chromogenes*, *S. equorum*, *S. felis*, *S. gallinarum*, *S. kloosii*, *S. lentus*, *S. muscae*, *S. pasteurii*, *S. percifermentans*, *S. sciuri* και *S. vitulus*. Η διαπίστωση ότι δεν υπάρχουν πολλές δημοσιευμένες μελέτες σχετικά με την παρουσία αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων στις ρινικές κοιλότητες των ανθρώπων που κατ' επάγγελμα έρχονται σε επαφή με τα ζώα, μας οδήγησε στην πραγματοποίηση αυτού του εκπονήματος. Στα πλαίσια της μελέτης, ελήφθησαν δείγματα από τις ρινικές κοιλότητες των φοιτητών της Κτηνιατρικής του Α.Π.Θ. με αποστειρωμένο βαμβακοφόρο στυλεό. Συνολικά, συλλέχθηκαν 81 δείγματα από τους τεταρτοετείς φοιτητές του Τμήματος Κτηνιατρικής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης. Η δειγματοληψία διενεργήθηκε το Νοέμβριο και το Δεκέμβριο του 2015.

Τα δείγματα καλλιεργήθηκαν σε ειδικά υποστρώματα και η ταυτοποίηση των ειδών του σταφυλόκοκκου πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο MALDI-TOFF MS. Επίσης, οι συμμετέχοντες συμπλήρωσαν ένα ερωτηματολόγιο, με βάση το οποίο εξήχθησαν τα συμπεράσματα της μελέτης (Παράρτημα Ι).

Από τα 81 δείγματα που ελήφθησαν από τους φοιτητές της Κτηνιατρικής, απομονώθηκαν συνολικά 59 δείγματα με σταφυλόκοκκο. Συνολικά δηλαδή, 59/81 φοιτητές (72,8%) ήταν θετικοί στο γένος σταφυλόκοκκου.

Συγκεκριμένα, σε 24/81 (29,6%) συμμετέχοντες βρέθηκαν αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι.

Από τους φοιτητές που ήταν θετικοί σε αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους, το 45,8% είχε *S. haemolyticus*, το 45,8% είχε *S. warneri*, το 16,6% *S. epidermidis*, το 4,2% *S. pasteurii* και το 4,2% *S. capitis*.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, βρέθηκε ότι οι έχοντες κατοικίδιο συμμετέχοντες ήταν σε σημαντικά χαμηλότερο βαθμό θετικοί στους αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους, σε σχέση με τους μη έχοντες. Επίσης, οι συμμετέχοντες που είχαν επισκεφθεί νοσοκομείο το τελευταίο εξάμηνο, ήταν σε στατιστικά χαμηλότερο ποσοστό θετικοί στους αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους σε σχέση με τους υπολοίπους. Τέλος, με βάση άλλες παραμέτρους που εξετάστηκαν – όπως το φύλο, η ηλικία, η προηγούμενη επίσκεψη σε ΜΕΘ ή νοσοκομείο, η συγγένεια πρώτου βαθμού με ιατρό ή ιατρικό προσωπικό, η πρότερη χειρουργική επέμβαση ή λήψη αντιβιοτικών, το κάπνισμα και η ύπαρξη πρότερης νόσου ή λοίμωξης – δεν προέκυψαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ανάμεσα στους συμμετέχοντες.

## TITLE OF ASSIGNMENT:

Investigation of coagulase - negative staphylococci nasal carriage among students of the School of Veterinary Medicine of Aristotle University of Thessaloniki.

## IMPORTANT TERMS:

Nasal carriage, Coagulase Negative staphylococci (CoNS), MALDI-TOFF.

## SUMMARY

Staphylococci are gram-positive bacteria. They can be separated according to the presence of the enzyme of coagulase. Coagulase-positive staphylococci are the following: *S. aureus*, *S. hyicus*, *S. schleiferi*, *S. intermedius*, *S. pseudintermedius*, *S. delphini* και *S. lutrae* (the rest of the staphylococci species) are characterized as coagulase-negative. The fact that there is a limited number of published studies about the nasal carriage of coagulase-negative staphylococci in people that are professionally involved with animals, led us to the implementation of this study. For this purpose, samples were taken from the nasal cavities of students of Veterinary medicine of the Aristotle University with a sterile cotton swab. 81 samples were collected in total from the nasal cavities of fourth year veterinary students of Aristotle University of Thessaloniki. The samples were collected during November and December 2015.

Samples were cultured in specific substrates and the identification of staphylococcal species was made using the MALDI-TOFF MS method. Participants also completed a questionnaire on the basis of which the conclusions of the study emerged (Appendix I).

The samples that were isolated with staphylococcus species from Veterinary students were totally 59 out of 81. In total, 59/81 students (72,8%) were positive in Staphylococcus.

In particular, in 24/81 (29,6%) participants CoNS were found.

Among the students that were positive in CoNS, 45,8% had *S. haemolyticus*, 45,8% had *S. warneri*, 16,6% *S. epidermidis*. 4,2% *S. pasteurii* and 4,2 % *S. capitis*.

According to the results of the study, pet owners tested positive for the coagulase-negative staphylococci were at a significantly lower rate compared to non-pet owners. Moreover, among the participants who had visited a hospital over the last six months, the percentage of positive results in coagulase-negative staphylococci was significantly lower compared to that of the other participants. Finally, based on other parameters examined – such as gender, age, previous visit to ICU or hospital, first degree affinity

with a doctor or medical staff, previous surgery or antibiotics intake, smoking and the presence of former disease or infection – there were no statistical differences between participants.



## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	V
SUMMARY .....	VII
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ .....	IX
ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	X
ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ.....	XI
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ .....	2
2.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ .....	2
2.2. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ .....	3
2.3. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ STAPHYLOCOCCUS .....	5
2.3.1. ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ .....	5
2.3.2. ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΟΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΕΣ .....	6
2.3.3. ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ .....	7
2.4. ΜΕΘΟΔΟΙ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗΣ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΩΝ .....	10
2.4.1. ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	10
2.4.2. ΓΟΝΟΤΥΠΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	11
2.5. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΩΝ.....	14
2.5.1. ΛΟΙΜΟΓΟΝΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ.....	14
2.5.2. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ .....	14
2.5.3. ΕΝΖΥΜΑ .....	16
2.5.4. ΤΟΞΙΝΕΣ .....	18
2.6. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΚΑΙ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΑΡΝΗΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΠΗΚΤΑΣΗ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΩΝ (CNS).....	22
2.7. ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΑΠΟ ΑΡΝΗΤΙΚΟΥΣ ΣΤΗΝ ΠΗΚΤΑΣΗ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΟΥΣ (CNS).....	23
2.7.1. CNS ΚΑΙ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ.....	23
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	26
3.1. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ.....	26
3.2. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΩΝ ΑΡΝΗΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΠΗΚΤΑΣΗ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΩΝ .....	27
3.3. ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΜΕ MALDI-TOFF.....	28
3.4. ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ .....	29
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	30
4.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ .....	30
4.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ MALDI – TOF .....	32
4.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟΥ.....	35
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....	43
6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	51
7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	52
7.1. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	52
7.2. ΑΓΓΛΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	52
7.3. INTERNET.....	57
8. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι .....	58

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θερμές ευχαριστίες στους καθηγητές μου, κύριο Σεργκελίδη, κύριο Χατζηχριστοδούλου, κυρία Μαλισιόβα για τη συμβολή τους και τη βοήθειά τους στη διεξαγωγή και συγγραφή αυτής της εργασίας.

Θερμές ευχαριστίες για τη σημαντική βοήθεια που μου παρείχε το προσωπικό του Εργαστηρίου Υγιεινής Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης του Τομέα Υγιεινής και Τεχνολογίας Τροφίμων Ζ.Π. του Τμήματος Κτηνιατρικής, της Σχολής Επιστημών Υγείας του Α.Π.Θ., καθώς και του Εργαστηρίου Υγιεινής και Επιδημιολογίας του Τμήματος Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

## ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας I. Παπαλάμπρου 1992 .....	8
Πίνακας II. Παπαλάμπρου 1992 .....	9
Πίνακας III. Αποτελέσματα δειγμάτων αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων στους φοιτητές Κτηνιατρικής .....	32
Πίνακας IV. Αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι.....	33
Πίνακας V. Δημογραφικά στοιχεία συμμετεχόντων.....	35
Πίνακας VI. Επισκέψεις/ νοσηλείες.....	36
Πίνακας VII. Συγγενείς ιατροί.....	37
Πίνακας VIII. Χρήση αντιβιοτικών .....	38
Πίνακας IX. Καπνιστικές συνήθειες .....	39
Πίνακας X. Ατομικό ιστορικό .....	40
Πίνακας XI. Αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι.....	40

## ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

Γράφημα I. Αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκοι (όπου N=αριθμός ατόμων) .....	33
Γράφημα II. Ύπαρξη κατοικίδιου .....	36
Γράφημα III. Επισκέψεις/νοσηλείες.....	37
Γράφημα IV. Συγγενείς ιατροί.....	38
Γράφημα V. Χρήση αντιβιοτικών .....	39
Γράφημα VI. Καπνιστές .....	39
Γράφημα VII. Αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκοι και κατοικίδιο .....	42
Γράφημα VIII. Αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκοι και νοσοκομείο .....	42

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι σταφυλόκοκκοι είναι βακτήρια Gram θετικά και αποτελούν σημαντικούς αιτιολογικούς παράγοντες λοιμώξεων. Όσον αφορά στους αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους (CNS), θα λέγαμε ότι αποτελούν μέρος της φυσιολογικής μικροβιακής χλωρίδας του δέρματος και των βλεννογόνων. Σε γενικές γραμμές, οι CNS δεν αποτελούν απειλή για την ανθρώπινη υγεία. Ωστόσο, κάποια είδη αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων σχετίζονται με λοιμώξεις. Ειδικότερα, οι *S. saprophyticus* και *S. lugdunensis* συνδέονται κυρίως με κοινές λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος, των μαλακών μορίων και του δέρματος, ενώ οι *S. epidermidis* και *S. haemolyticus* έχουν συσχετιστεί με σοβαρές λοιμώξεις προσθετικών υλικών (Leclercq, 2009).

Ανατρέχοντας στη διεθνή βιβλιογραφία, διαπιστώθηκε ότι υπάρχουν πολύ λίγες πληροφορίες σχετικά με την φορεία των αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων στους ανθρώπους, ιδιαίτερα σε επαγγέλματα υψηλού κινδύνου, όπως είναι αυτό των κτηνιάτρων. Σκοπό λοιπόν της συγκεκριμένης έρευνας, αποτελεί η συλλογή δειγμάτων από τη ρινική κοιλότητα των φοιτητών του τμήματος Κτηνιατρικής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης και η διερεύνηση της ρινικής φορείας των αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων

Οι μικροβιολογικές εξετάσεις, που ήταν απαραίτητες για την πραγματοποίηση αυτής της εργασίας, έγιναν:

- α. Στο Εργαστήριο Υγιεινής Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης, του Τομέα Υγιεινής και Τεχνολογίας Τροφίμων Ζ.Π. του Τμήματος Κτηνιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Α.Π.Θ..
- β. Στο Εργαστήριο Υγιεινής και Επιδημιολογίας, του Τμήματος Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

## 2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

### 2.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Οι σταφυλόκοκκοι παρατηρήθηκαν για πρώτη φορά από τον Koch το 1878 και καλλιεργήθηκαν σε υγρά θρεπτικά υλικά από τον Pasteur το 1880 (Παπαλάμπρου, 1992). Την ονομασία “*Staphylococcus*” απέδωσε για πρώτη φορά ο Sir Alexander Ogston το 1883 και προέρχεται από την ελληνική ονομασία «σταφυλή», λόγω του σχηματισμού τους σε αθροίσματα που μοιάζουν με τσαμπιά από σταφύλια (Ogston, 1882). Ο πρώτος διαχωρισμός των σταφυλόκοκκων πραγματοποιήθηκε το 1884 από τον Rosenbach, σε παθογόνους (*S. aureus*) και μη παθογόνους (*S. epidermidis*), σύμφωνα με την ικανότητα των παθογόνων στελεχών να προκαλούν πήξη του αίματος (Rupp & Archer, 1994; Μπαρτζάβαλη – Λούκη, 2003).

Το 1902, οι Kolle και Otto πρότειναν την ταξινόμηση των σταφυλόκοκκων σε παθογόνα και μη παθογόνα στελέχη με βάση τις μεθόδους αιμοσυγκόλλησης (Kolle & Otto, 1902). Ένα χρόνο αργότερα, το 1903, ο Loeb απέδειξε ότι ο *S. pyogenes aureus* προκαλεί πήξη του αίματος μέσα σε λίγες ώρες, ενώ ο *S. epidermidis albus* δεν μπορεί να το καταφέρει. (Loeb, 1903). Δεκαετίες αργότερα, το 1935, ο Walston κατέδειξε ότι η υπεύθυνη για την οργανική βλάβη δεν ήταν η πηκτάση, αλλά μία τοξίνη (Walston, 1935), ενώ ο Duthie το 1954, απέδειξε ότι υπήρχαν δύο μορφές σταφυλοκοκκικής πηκτάσης, η συνδεδεμένη και η ελεύθερη (Duthie, 1954). Δύο χρόνια αργότερα, το 1956, γίνεται αναφορά για υψηλότερο ποσοστό φορέων *S. pyogenes* στους νοσηλευόμενους ασθενείς, συγκριτικά με τον υπόλοιπο πληθυσμό (F. Foster, Knight, Wenzel, & White, 1956). Στην ίδια εργασία, αναφέρεται ότι το ποσοστό αυτό αυξάνεται ανάλογα με τη διάρκεια παραμονής τους στο νοσοκομείο. Η θέση αποικισμού ήταν η ανώτερη αναπνευστική οδός και ο μικροοργανισμός πολλαπλασιάζεται χωρίς καμία διείσδυση στους ιστούς. Τέλος, η πρώτη καταγεγραμμένη αναφορά σε λοίμωξη χειρουργικών τραυμάτων από πηκτάση αρνητικούς σταφυλόκοκκους έγινε το 1965 (Wilson & Stuart, 1965; Μπαρτζάβαλη – Λούκη, 2003).

## 2.2. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Οι σταφυλόκοκκοι ανήκουν στην οικογένεια Micrococcaceae, η οποία περιλαμβάνει τα γένη *Micrococcus*, *Planococcus* και *Staphylococcus* (Σαρρής, Ηλιάδης, Μπουρτζή-Χατζοπούλου, & Κουμπάτη-Αρτοποιού, χ. χ.). Ο διαχωρισμός των γενών βασίζεται στην ικανότητά τους να διασπούν τη γλυκόζη αερόβια ή αναερόβια. Οι μικρόκοκκοι διασπούν τη γλυκόζη μόνο αερόβια, ενώ οι σταφυλόκοκκοι τόσο αερόβια, όσο και αναερόβια (Baird-Parker, 1963; Baird-Parker, 1965; Baird-Parker, 1971; Σαρρής et al).

Με βάση τη μελέτη του Baird-Parker, οι μικρόκοκκοι διαιρέθηκαν σε 8 βιότυπους M1-M8 και οι σταφυλόκοκκοι σε 6 βιότυπους SI-SVI. Ο βιότυπος SI ήταν ο *S. aureus* και οι βιότυποι SII-SIV συνδυάστηκαν αργότερα και προέκυψαν 4 βιότυποι αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων (*S. epidermidis* 1-4) (Baird-Parker, 1971). Αργότερα, ανακαλύφθηκε ότι οι 4 πρώτοι βιότυποι των μικρόκοκκων εμφάνιζαν ομοιότητες με τους σταφυλόκοκκους στο DNA και στο κυτταρικό τοίχωμα. Έτσι, το 1974 ταξινομήθηκαν ως *S. saprophyticus* βιότυπος 1-4. Για την αναγνώριση των βιοτύπων ο Baird-Parker χρησιμοποίησε τις δοκιμές παραγωγής φωσφατάσης, παραγωγής οξέων από την οξείδωση διαφόρων σακχάρων και Voges-Proskauer (Baird-Parker, 1974; W. E. Kloos & K. H. Schleifer, 1975; Παπαλάμπρου, 1992).

Η κατάταξη των σταφυλόκοκκων βασίζεται σήμερα στην ταξινόμηση των Kloos και Schleifer (1975) και περιλαμβάνει 34 είδη, που διαχωρίζονται μεταξύ τους από τις βιοχημικές τους ιδιότητες (Μπαρτζάβαλη – Λούκη, 2003). Ο *S. aureus* -ή αλλιώς «χρυσίζων» σταφυλόκοκκος- αποτελεί τον κύριο παθογόνο μικροοργανισμό και παράγει πηκτάση. Δεύτερος σε συχνότητα είναι ο *S. epidermidis*, που μαζί με τα περισσότερα από τα υπόλοιπα είδη σταφυλόκοκκων κατηγοριοποιούνται ως πηκτάση-αρνητικοί σταφυλόκοκκοι (Coagulase Negative Staphylococcus – CNS) (Duthie, 1954; Παπαλάμπρου, 1992). Μάλιστα, οι Kloos και Schleifer, χρησιμοποιώντας διαφορετικές μεθόδους, αναγνώρισαν 8 επιπλέον είδη αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων. Έτσι, με βάση την ταξινόμησή τους, στους αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους περιλαμβάνονται οι *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. capitis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. warneri*, *S. simulans*, *S. sciuri*, *S. cohnii* και *S. xylosus* (WE. Kloos & KH. Schleifer, 1975; WE. Kloos & KH. Schleifer, 1975).

Η προσπάθεια ταξινόμησης συνεχίζεται μέχρι και τις μέρες μας, όπου στους αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους ανήκουν οι: *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. capitis*, *S. cohnii*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. lugdunensis*, *S. saccharolyticus*, *S. simulans*, *S. warneri*, *S. xylosus*, *S. aelettae*, *S. auricularis*, *S. caprae*, *S. carnosus*, *S. caselyticus*, *S. chromogenes*, *S. equorum*, *S. felis*, *S. gallinarum*, *S. kloosii*, *S. lentus*, *S. muscae*, *S. pasteurii*, *S. perfermentans*, *S. sciuri* και *S. vitulus* (WE. Kloos & KH. Schleifer, 1975; WE. Kloos & KH. Schleifer, 1975; Δημητρακόπουλος, 1987; Σαρρής et al). Επίσης, υπάρχουν αναφορές για σχετικά καινούρια είδη, όπως ο *S. pettenkoferi*, ο οποίος είναι πηκτάση αρνητικός σταφυλόκοκκος και ευαίσθητος στη νοβοβοκίνη (Trulzsch et al., 2002; Ντούτσου, 2005).

Επιπλέον, σε ένα πρόσφατο πείραμα που έγινε το 2010 από μία ομάδα ερευνητών με τη μέθοδο multiplex PCR, απομονώθηκαν από 374 αθροίσματα - αλυσίδες ομάδων σταφυλόκοκκων, 7 είδη σταφυλόκοκκων θετικά στην πηκτάση (*S. aureus*, *S. hyicus*, *S. schleiferi*, *S. intermedius*, *S. pseudintermedius*, *S. delphini* και *S. lutrae* (Sasaki et al., 2010).



## **2.3. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ STAPHYLOCOCCUS**

### **2.3.1. ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ**

#### **2.3.1.1. Α. Σταφυλόκοκκοι**

Οι σταφυλόκοκκοι είναι βακτήρια που ανήκουν στη φυσιολογική χλωρίδα του δέρματος, των ρωθώνων ή του εντέρου των ανθρώπων και των ζώων. Αποβάλλονται με το ρινικό έκκριμα, το σίελο, τα κόπρανα και το γάλα, ενώ υπάρχουν στο νερό, στο έδαφος, αλλά και στον αέρα (Σαρρής et al).

Πρόκειται για κόκκους σφαιρικούς και ακίνητους, χωρίς βλεφαρίδες και σπόρο. Είναι θετικοί κατά Gram, ανθεκτικοί στη θερμότητα και στη ξηρασία, ενώ η διάμετρός τους κυμαίνεται από 0,5 έως 1,5  $\mu\text{m}$ . Δε φέρουν έλυτρο, αλλά ορισμένα στελέχη αναπτύσσουν ένα λεπτό περίβλημα από αμινογλυκουρονικό οξύ, το οποίο προσδίδει στον *S. aureus* αντοχή στη φαγοκυττάρωση. Διατίθενται μεμονωμένα, σε ζεύγη, τετράδες, κοντές αλυσίδες και σε ακανόνιστες ομάδες σαν τσαμπιά από σταφύλι, όπως προσδίδει χαρακτηριστικά το όνομά τους (Δημητρακόπουλος, 1987; Ντούτσου, 2005; Παπαλάμπρου, 1992; Σαρρής et al).

Ένα από τα χαρακτηριστικά των σταφυλόκοκκων είναι η παραγωγή και η έκκριση διαφόρων ουσιών στο περιβάλλον. Ορισμένες από αυτές τις ουσίες είναι τοξίνες και έχουν σχέση με την παθογένεια του βακτηρίου, ενώ κάποιες άλλες είναι εξίσου σημαντικές και μελετώνται γιατί έχουν σχέση με την ταυτοποίησή τους (Σαρρής et al).

#### **2.3.1.2. Β. Αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι (CNS)**

Παρόλο που στην πλειονότητά τους οι αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι δεν θεωρούνται απειλή για την ανθρώπινη υγεία, υπάρχουν σημαντικές εξαιρέσεις, όπως οι *S. saprophyticus* και *S. lugdunensis*, οι οποίοι συνδέονται κυρίως με κοινές λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος, των μαλακών μορίων και του δέρματος, καθώς επίσης και οι *S. epidermidis* και *S. haemolyticus*, οι οποίοι έχουν συσχετιστεί με σοβαρές λοιμώξεις προσθετικών υλικών. Τα υπόλοιπα είδη της κατηγορίας μπορούν να προκαλέσουν μόνο σποραδικές λοιμώξεις (Leclercq, 2009).

Οι περιοχές αποικισμού τους είναι αυτές με αυξημένη υγρασία, όπως η μασχαλαία και βουβωνική χώρα, οι γλουτοί, ο ομφαλός, οι επιπεφυκότες, η ρινική κοιλότητα, η ιγνυακή χώρα και τα πέλματα. Αποτελούν μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας και φαίνεται ότι παρέχουν κάποια οφέλη στον οργανισμό. Αναφέρεται ότι ο αριθμός τους στο ανθρώπινο δέρμα κυμαίνεται από  $10$  έως  $10^5$  CFU/cm<sup>2</sup> σε υγιείς ενήλικες. Ενώ αρχικά προκαλούσαν σπάνια κάποια λοίμωξη, πλέον έχει αποδειχθεί ότι αποτελούν

αίτιο σημαντικών λοιμώξεων. Αυτή η μεταστροφή τους, από συμβιωτικούς οργανισμούς σε παθογόνους, οφείλεται στη χρήση προσθετικών υλικών στον τομέα της Ιατρικής. Επιπλέον, έναν ακόμη παράγοντα που συμβάλλει στη μεταστροφή αυτή, αποτελεί η ανάπτυξη στο νοσοκομειακό περιβάλλον ανθεκτικών στελεχών σε αντιμικροβιακά φάρμακα. Αυτό, συμβαίνει λόγω της εκτεταμένης χρήσης αντιβιοτικών ευρέος φάσματος, που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση των ενδονοσοκομειακών λοιμώξεων, καθώς και λόγω της αύξησης του αριθμού των ασθενών με σοβαρή νόσο (ουδετεροπενικοί, άτομα με κακοήθεια). Αντίθετα, η βακτηριαμία που εμφανίζεται στους προαναφερθέντες ασθενείς, είναι πιθανό να έχει ως πηγή μόλυνσης τον καθετήρα ή το γαστρεντερικό σύστημα του ίδιου του ασθενούς (Iwase et al., 2010; Rupp & Archer, 1994; Vadyvaloo & Otto, 2005). Η ύπαρξη ανθεκτικών στα αντιβιοτικά σταφυλόκοκκων – τόσο θετικών όσο και αρνητικών στην πηκτάση – εξέγειρε την ανησυχία του Διεθνούς Οργανισμού Υγείας (World Health Organization – WHO), που με σχετική ανακοίνωση τον Απρίλιο του 2015 ενημέρωσε το κοινό τόσο για το φαινόμενο, όσο και για τους τρόπους πρόκλησης ανθεκτικών στελεχών. Μάλιστα, επισημαίνει χαρακτηριστικά ότι στην ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών, δεν συμβάλλει μόνο η αλόγιστη χρήση των αντιβιοτικών στην Ιατρική, αλλά και στην Κτηνιατρική - ιδιαίτερα στην Κτηνοτροφία. Αντίστοιχα, προειδοποιεί ακόμη και για την ύπαρξη θανάτων σε νοσούντες αν η κατάσταση της ανθεκτικότητας των μικροοργανισμών επιδεινωθεί (WHO, 2015).

Ο αρνητικός στην πηκτάση σταφυλόκοκκος που απομονώνεται συχνότερα, είναι ο *S. epidermidis*, ο οποίος συνήθως αποικίζει τη μασχαλιαία χώρα, τις ρινικές κοιλότητες, το περίνεο, τη βουβωνική χώρα, τους επιπεφυκότες και τα μεσοδακτύλια διαστήματα. Αποτελεί το 65-90% όλων των σταφυλόκοκκων της χλωρίδας. Συγκεκριμένα, το είδος αυτό των σταφυλόκοκκων είναι ένας από τους συχνότερους παράγοντες ενδονοσοκομειακών λοιμώξεων, με τους υγιείς ενήλικες να διαθέτουν 10 έως 24 στελέχη *S. epidermidis*. Μάλιστα, η θεραπεία του είναι πολύ δύσκολη, καθώς πάνω από το 70% των στελεχών που απομονώνονται, εμφανίζουν ανθεκτικότητα στη μεθικιλίνη και σε άλλες ημισυνθετικές πενικιλίνες (Becker, Heilmann, & Peters, 2014).

Αναφορικά με τα υπόλοιπα είδη αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων, οι *S. haemolyticus* και *S. hominis*, αποικίζουν κυρίως τη μασχαλιαία και ηβική χώρα, ενώ ο *S. capitis* προτιμά την περιοχή γύρω από τους σμηγματογόνους αδένες στο μέτωπο και το τριχωτό της κεφαλής, μετά την εφηβεία. Ο *S. auricularis* αποικίζει το έξω ους, ο *S. lugdunensis* συναντάται συχνότερα στην περιοχή της πυέλου και του περινέου, στα κάτω άκρα, στη βουβωνική και τη μασχαλιαία χώρα, ενώ ο *S. saprophyticus* απαντάται κυρίως στο ορθό και στο ουροποιητικό σύστημα (Becker et al., 2014).

### 2.3.2. ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΟΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΕΣ

Οι αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι αναπτύσσονται εύκολα στα περισσότερα θρεπτικά υλικά, σε αερόβιες ή μικροαερόφιλες συνθήκες. Ο μέγιστος ρυθμός ανάπτυξης επιτυγχάνεται στους 37°C, αλλά αναπτύσσονται και σε θερμοκρασίες από 10°C έως 45°C. Αποκτούν αποικίες σε 18 έως 24 ώρες σε στερεά θρεπτικά υλικά, όπως το αιματούχο, το θρεπτικό, το trypticase soya και το brain-heart infusion άγαρ

(Παπαλάμπρου, 1992). Εξαίρεση αποτελούν οι *S. aureus subsp. anaerobius*, *S. saccharolyticus*, *S. auricularis*, *S. equorum*, *S. caseolyticus*, *S. vitulus* και *S. lentus*, που απαιτούν 24-36 ώρες για την ανάπτυξη των αποικιών τους (Kloos & Bannerman, 1995). Η μεγάλη αντοχή τους σε υψηλές πυκνότητες NaCl (8-10%), χρησιμοποιείται για την απομόνωσή τους από υλικά που περιέχουν κι άλλα μικρόβια (J. P. Duguid, 1989). Σε υγρά θρεπτικά υλικά προκαλούν ομοιομερή θολερότητα, ενώ σε στερεά θρεπτικά υλικά σχηματίζουν αποικίες διαμέτρου 1-3 mm, λείες, υπερυψωμένες, που λάμπουν και παράγουν διάφορες χρωστικές (Ντούτσου, 2005).

Σε στερεά θρεπτικά υποστρώματα, μετά από 24 ώρες επώασης, οι αποικίες έχουν διάμετρο 1-3 mm, είναι κυκλικές, λείες και το χρώμα τους κυμαίνεται από άσπρο έως πορτοκαλί, ανάλογα με τη χρωστική που παράγουν. Επίσης, σε καλλιέργεια με αιματούχο άγαρ, παρουσιάζουν μερικές φορές ζώνες αιμόλυσης, λόγω της αιμολυσίνης που παράγουν. Σημειώνεται, ότι κατά την καλλιέργεια σε υγρά θρεπτικά υποστρώματα δεν παράγουν χρωστική (Kloos & Bannerman, 1995; Ντούτσου, 2005).

Η μορφολογία των αποικιών μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως συμπληρωματικό χαρακτηριστικό στην ταυτοποίηση των ειδών. Πιο συγκεκριμένα, οι αποικίες του *S. aureus* είναι συνήθως μεγάλες, με διάμετρο 6-8 mm και ημιδιαφανείς όταν αναπτύσσονται σε αιματούχο άγαρ, ενώ είναι μαύρες με διάφανη άλω όταν αναπτύσσονται στο υπόστρωμα Baird-Parker. Οι αποικίες του *S. epidermidis* είναι μικρότερες, με διάμετρο 2,5-6 mm και συνήθως χωρίς χρωστική, ενώ του *S. haemolyticus* αρκετά μεγαλύτερες με διάμετρο 5-9 mm και αδιαφανείς, χωρίς χρώμα ή άσπρες μέχρι κίτρινο-πορτοκαλί. Οι αποικίες του *S. saprophyticus* έχουν διάμετρο 5-8 mm και είναι αδιαφανείς και κυρτές. Την ίδια διάμετρο εμφανίζουν και οι αποικίες των *S. intermedius* και *S. hyicus*, με ελαφρά κυρτότητα και χωρίς χρώμα (Kloos & Bannerman, 1995; Ντούτσου, 2005). Σημειώνεται βέβαια, ότι σε παρατεταμένη επώαση γίνονται διαφανείς (Παπαλάμπρου, 1992).

Τέλος, κατά την καλλιέργεια σε εκλεκτικό αλατούχο άγαρ με μαννιτόλη (Chapman), οι *S. simulans* και *S. saprophyticus* - που παράγουν οξύ - μπορούν εύκολα να διαφοροποιηθούν από τους *S. epidermidis* και τα περισσότερα στελέχη του *S. hominis* και *S. hyicus*, που δεν παράγουν. Η παραγωγή οξέος γίνεται μετά από την επώαση 24-48 ωρών, βάφοντας τις αποικίες καθώς και το υπόστρωμα κίτρινα, σαν αποτέλεσμα της αλλαγής του χρώματος του ερυθρού της φαινόλης από την παρουσία οξέος (Παπαλάμπρου, 1992).

### 2.3.3. ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Οι σταφυλόκοκκοι έχουν την ικανότητα να διασπούν τη γλυκόζη τόσο αερόβια, όσο και αναερόβια. Επίσης, δίνουν τη δοκιμή της καταλάσης θετική. Επιπρόσθετα, οι αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι, με εξαίρεση κάποια στελέχη, δεν οξειδώνουν ούτε ζυμώνουν τη μαννιτόλη, σε αντίθεση με τον *S. aureus*. Τέλος, έχουν την ικανότητα να διασπούν και διάφορα άλλα σάκχαρα, αερόβια ή αναερόβια, με παραγωγή οξέος ή όχι, όπως α-λακτόζη, D-φρουκτόζη και D-ξυλόζη (Baird-Parker, 1963; Baird-Parker, 1965; Baird-Parker, 1971; Goslings & Buchli, 1958; Παπαλάμπρου, 1992).

Αυτές τους οι βιοχημικές ιδιότητες και σε συνδυασμό με τα χαρακτηριστικά των αποικιών τους, βοηθούν στην ταυτοποίηση των διαφόρων ειδών και συνοψίζονται στους πίνακες 1 και 2.

Πίνακας Ι. Παπαλάμπρου 1992

Ιδιότητες	Διαφοροποίηση στελεχών Σταφυλόκοκου									
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. capitis</i>	<i>S. caprae</i>	<i>S. warneri</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. saccharolyticus</i>	<i>S. auricularis</i>	<i>S. saprophyticus</i>
1. Μέγεθος αποικίας	+	-	-	+	d	+	-	-	-	+
2. Χρωστική αποικίας	+	+	(+)	(+)	d	(+)	-	-	(+)	(+)
3. Αναερόβια ανάπτυξη	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
4. Αερόβια ανάπτυξη	+	+	-	(d)	-	(+)	d	+	(d)	-
5. Κοαγκουλάση	+	-	-	+	+	d	d	ND	d	-
6. Αιμόλυση	+	+	d	+	+	-	-	d	-	-
7. Αναγωγή νιτρικών	+	+	d	+	+	-	+	ND	-	+
8. Ακετόνη	+	+	-	+	+	-	+	ND	-	-
9. Κυτάρωμα C <sup>h</sup>	+	+	-	+	+	-	+	ND	-	-
10. Φωσφατάση	+	+	-	+	+	-	+	ND	-	-
11. Ουρεάση	+	+	-	+	+	-	+	ND	-	-
12. Χρησιμοποίηση Αργινίνης	+	+	-	+	+	-	+	ND	-	-
13. β-γλυκοσιδάση	+	(d)	-	+	+	-	-	ND	-	-
14. β-γλυκουρονιδάση	+	-	-	-	+	-	-	ND	-	-
15. β-γαλακτασιδάση	+	-	-	-	+	-	-	ND	-	-
16. Αντοχή στη νοβοβιοσίνη	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17. Οξύ (αερόβιας) από	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+
Μαλτόζη	+	-	-	-	(+)	+	+	-	(+)	+
D-Τρεχαλόζη	+	-	-	-	+	+	+	-	(+)	+
D-Μαννιτόλη	+	-	-	-	+	+	+	-	(+)	+
D-Ξυλόζη	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Χυλιτόλη	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Σελοβιόζη	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Σουκρόζη	+	+	(+)	-	+	+	+	ND	(d)	+
D-Τουρανόζη	+	+	+	+	+	+	+	(+)	-	-
D-Μαννάνη	+	+	+	+	+	+	+	ND	-	-
D-Ριβόζη	+	+	+	+	+	+	+	ND	-	-
Ραφινόζη	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
α-Λακτόζη	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
β-D-Φρουκτόζη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Πίνακας II. Παπαλάμπρου 1992

Ιδιότητες	S. cohnii*		S. xylosus	S. simulans	S. carnosus	S. intermedius	S. hyicus*		S. sciuri	S. lentus	S. caseolyticus	S. gallinarum
	Human	Primate					Subsp. hyicus	Subsp. chromogenes				
1. Μέγεθος αποικίας	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. Χρωστική αποικίας	d	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. Αναερόβια ανάπτυξη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. Αερόβια ανάπτυξη	(d)	(d)	+	(d)	+	+	+	+	+	+	+	+
5. Κοαγκουλάση	(d)	(d)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6. Αιμόλυση	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7. Αναγωγή νιτρικών	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8. Ακετόνη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9. Κυτόχρωμα C <sup>h</sup>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10. Φωσφάση	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11. Ουρεάση	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12. Χρησιμοποίηση Αργινίνης	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13. β-γλυκοσιδάση	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14. β-γλυκουρονιδάση	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15. β-γαλακτοσιδάση	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16. Αντοχή στη νοβοβιοσίνη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17. Οξύ (ασροβίως) από Μαλιτόζη	(d)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Τρεχαλόζη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Μαννιτόλη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Ξυλόζη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Χυλιτόλη	(d)	(d)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Σελλοβιόζη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Σουκρόζη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Τουρανοζή	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Μαννόζη	(d)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Ριβοζή	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ραφινόζη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
α-Λακτόζη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
β-D-Φρουκτόζη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

## 2.4. ΜΕΘΟΔΟΙ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗΣ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΩΝ

Εδώ και αρκετά χρόνια, για την τυποποίηση των σταφυλόκοκκων χρησιμοποιούνταν ο βιότυπος και η αντοχή στα αντιμικροβιακά. Ωστόσο, πλέον οι μέθοδοι εκλογής για τη διαφοροποίηση των βακτηριακών υπότυπων, είναι οι μέθοδοι που ελέγχουν τη συγγένεια των στελεχών σε μοριακό επίπεδο. Δεδομένου ότι οι σταφυλόκοκκοι χαρακτηρίζονται από τεράστια ποικιλομορφία, θα πρέπει οι τεχνικές τυποποίησης να μπορούν να ανταποκριθούν στο γεγονός αυτό. Η επιλογή της μεθόδου τυποποίησης εξαρτάται από ένα πλήθος παραγόντων, όπως ο σκοπός της εκάστοτε έρευνας και οι επιδημιολογικές συνθήκες διεξαγωγής της μελέτης. Ιδανικά, η μέθοδος τυποποίησης θα πρέπει να έχει ικανοποιητική διακριτική ικανότητα μεταξύ των στελεχών και παράλληλα να είναι γρήγορη, χαμηλού κόστους, υψηλής επαναληψιμότητας και να έχει αποτελέσματα εύκολα ερμηνεύσιμα (Sabat et al., 2013; Γιορμέζης, 2015).

Οι μέθοδοι τυποποίησης διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τις φαινοτυπικές και τις γονοτυπικές. Στις φαινοτυπικές μεθόδους τυποποίησης, περιλαμβάνονται ο βιότυπος, ο έλεγχος ευαισθησίας στα αντιμικροβιακά, η τυποποίηση με βακτηριοφάγους (Phage Typing), η ανοσοαποτύπωση Western blot (immunoblotting) και η πολυτοπική ενζυμική ηλεκτροφόρηση (MultiLocus Enzyme Electrophoresis - MLEE). Στις γονοτυπικές μεθόδους, περιλαμβάνονται η RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA), η Repetitive – element Polymerase Chain Reaction (Rep - PCR), η ηλεκτροφόρηση σε παλλόμενο ηλεκτρικό πεδίο (Pulsed – Field Gel Electrophoresis - PFGE), η πολυτοπική ανάλυση αλληλουχίας (MultiLocus Sequence Typing - MLST), η μονοτυπική ανάλυση αλληλουχίας (SingleLocus Sequence Typing - SLST) και η Matrix – Assisted Laser Desorption/Ionization Time – Of – Flight Mass Spectrometry (MALDI – TOF – MS).

Άλλες μοριακές μέθοδοι τυποποίησης (λιγότερο διαδεδομένες), είναι η Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) και η MultiLocus Variable – number tandem repeats Analysis (MLVA) (Sabat et al., 2013; Γιορμέζης, 2015).

### 2.4.1. ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

#### 2.4.1.1. Βιότυπος

Η συγκεκριμένη μέθοδος τυποποίησης, διαφοροποιεί τα στελέχη με βάση το σύνολο των μεταβολικών ιδιοτήτων του σταφυλόκοκκου. Κάποιες από τις ιδιότητες αυτές είναι η μορφολογία των αποικιών (χρώμα, υφή, αιμόλυση), οι βιοχημικές αντιδράσεις και οι ιδιότητες που σχετίζονται με το περιβάλλον, όπως η ικανότητα ανάπτυξης σε συγκεκριμένο θρεπτικό υλικό, pH ή θερμοκρασία (Becker et al., 2014). Μειονεκτήματα της μεθόδου, αποτελούν η χαμηλή επαναληψιμότητα και η διαχωριστική ικανότητα (Γιορμέζης, 2015).

- **Έλεγχος Ευαισθησίας στα Αντιμικροβιακά**

Αυτή η μέθοδος έχει περιορισμένη εφαρμογή στην τυποποίηση των στελεχών σε ερευνητικό επίπεδο, λόγω της χαμηλής αξιοπιστίας της. Αυτό οφείλεται στην ύπαρξη

ανθεκτικών στελεχών εξαιτίας της αλόγιστης χρήσης αντιβιοτικών. Ωστόσο, στα νοσοκομεία εφαρμόζεται σε επίπεδο ρουτίνας επειδή είναι πολύ σημαντική σε κλινικό επίπεδο για την επιλογή του κατάλληλου αντιβιοτικού (Γιορμέζης, 2015).

- **Τυποποίηση με Βακτηριοφάγους (Phage Typing)**

Σε αυτή τη μέθοδο, το βακτηριακό εναιώρημα τοποθετείται σε τρυβλία τα οποία περιέχουν κατάλληλο θρεπτικό υπόστρωμα και στη συνέχεια εκτίθεται σε εναιώρημα διαφόρων φάγων. Η ανάπτυξη του βακτηρίου αξιολογείται μετά από επώαση 24 ωρών. Ένα στέλεχος θεωρείται ευαίσθητο σε ένα φάγο, εάν επέλθει λύση των αναπτυσσόμενων βακτηριακών κυττάρων καταλείποντας περιοχές μειωμένης ανάπτυξης. Αντίθετα, θεωρείται ανθεκτικό αν δεν επηρεαστεί η ανάπτυξή του. Η μέθοδος αυτή, βρίσκει εφαρμογή για να προσδιορίσει τα πληθυσμιακά χαρακτηριστικά και τους τρόπους διασποράς των βακτηριακών στελεχών, αλλά δεν μπορεί να εφαρμοστεί στα ανθεκτικά στη μεθικιλίνη στελέχη (Wildemauwe et al., 2004).

- **Ανοσοαποτύπωση Western Blot (Immunoblotting)**

Πρόκειται για νεότερη φαινοτυπική μέθοδο, η οποία βασίζεται στην εκχύλιση των πρωτεϊνών του στελέχους, την ηλεκτροφόρησή τους σε πολυακρυλαμίδα και την αποτύπωση σε μεμβράνες νιτροκυτταρίνης με μεταφορά κατά Western. Έπειτα, γίνεται εμβάπτιση των μεμβρανών σε αντισταφυλοκοκκικό ορό και ακολουθεί η αξιολόγηση των προτύπων που σχηματίζονται από την ένωση του πρωτεϊνικού αντιγόνου με τα αντισώματα του ορού (Χίνη, 2007).

Το αποτέλεσμα της τεχνικής αυτής ήταν ικανοποιητικό στις επιδημιολογικές μελέτες του *S. aureus*. Ωστόσο, παρόλο που η μέθοδος θεωρείται αποτελεσματική στη διάκριση σχετιζόμενων με μία επιδημική έξαρση στελεχών, δε χρησιμοποιείται ιδιαίτερα, επειδή χρειάζεται εμπειρία για την ανάγνωση των αποτελεσμάτων και της ανάγκης χρήσης ανθρώπινου αντιορού (Tenover et al., 1994; Towbin, 1992; Γιορμέζης, 2015; Χίνη, 2007).

- **Πολυτοπική Ενζυμική Ηλεκτροφόρηση (MultiLocus Enzyme Electrophoresis – MLEE)**

Η εν λόγω μέθοδος, παρουσιάζει τον πολυμορφισμό των ενζύμων με βάση τον ηλεκτροφορητικό διαχωρισμό τους και καθορίζει διάφορες σταθερές κυτταρικές πρωτεΐνες (housekeeping proteins). Μετράει τη γενετική ετερογένεια και δίνει πληροφορίες που συμβάλλουν στη μελέτη της δομής του πληθυσμού των βακτηριακών ειδών (Musser & Kapur, 1992; Χίνη, 2007).

## 2.4.2. ΓΟΝΟΤΥΠΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

- **RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA)**

Η μέθοδος αυτή, εφαρμόστηκε για πρώτη φορά στις αρχές της δεκαετίας του '90 για τη μοριακή τυποποίηση βακτηρίων. Στην πορεία, δείχτηκε ότι είναι αποτελεσματική και για τα MRSA στελέχη (van Belkum et al., 1993; Χίνη, 2007). Βασίζεται στο γεγονός ότι πολλαπλασιάζονται παράλληλα διάφορα τμήματα DNA χρησιμοποιώντας εκκινητές μικρών αλληλουχιών, οι οποίοι συνδέονται σε μη ειδικές γενετικές αλληλουχίες και στη συνέχεια υβριδοποιούνται με υψηλή απόδοση σε

επαναλαμβανόμενες χρωμοσωμικές θέσεις. Οι συνθήκες πολλαπλασιασμού είναι τέτοιες, που επιτρέπουν τον υβριδισμό σε πολλαπλές περιοχές. Η ανάλυση των προϊόντων της αντίδρασης γίνεται με ηλεκτροφόρηση σε αгарόζη, ενώ ο αριθμός και η θέση των σημείων σύνδεσης είναι χαρακτηριστικός για κάθε βακτηριακό στέλεχος. Το κυριότερο μειονέκτημα της μεθόδου είναι η χαμηλή επαναληψιμότητα (Sabat et al., 2013; Γιορμέζης, 2015).

- **Repetitive – element Polymerase Chain Reaction (Rep – PCR)**

Στη συγκεκριμένη μοριακή τεχνική, οι εκκινητές είναι συμπληρωματικοί προς τις επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες μεταξύ των γονιδίων, οι οποίες υπάρχουν σε πολλές θέσεις στο βακτηριακό χρωμόσωμα. Η αλληλουχία DNA ανάμεσα σε γειτονικά επαναλαμβανόμενα στοιχεία ενισχύεται με PCR, με τον αριθμό των προϊόντων να εξαρτάται από τη διασπορά των στοιχείων αυτών στο γενετικό υλικό του βακτηρίου. Μετά από ηλεκτροφόρηση σε αгарόζη, τα αποτελέσματα συγκρίνονται και εντοπίζονται τα συγγενικά στελέχη. Εάν διαφέρουν οι επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες σε αριθμό και τοποθεσία, με τον ίδιο τρόπο διαφέρουν τα ενδο-επαναλαμβανόμενα τμήματα σε αριθμό και μέγεθος από στέλεχος σε στέλεχος. Στα πλεονεκτήματά της, περιλαμβάνονται η ταχύτητα, το χαμηλό κόστος και η υψηλή διακριτική ικανότητα για κάποια είδη βακτηρίων. Το βασικό μειονέκτημά της είναι, όπως και στη RAPD, η μικρή επαναληψιμότητα λόγω μεταβολών στα αντιδραστήρια και στις συνθήκες ηλεκτροφόρησης (Sabat et al., 2013; Γιορμέζης, 2015; Χίνη, 2007).

- **Ηλεκτροφόρηση σε Παλλόμενο Ηλεκτρικό Πεδίο Γέλης (Pulsed – Field Gel Electrophoresis – PFGE)**

Η τεχνική αυτή αναπτύχθηκε το 1984 και αποτέλεσε σε σύντομο χρονικό διάστημα μέθοδο αναφοράς (“gold standard”) για τη μοριακή τυποποίηση των βακτηρίων (Γιορμέζης, 2015). Εστιάζει στη διαφοροποίηση της γωνίας του ηλεκτρικού πεδίου κατά τη διάρκεια της ηλεκτροφόρησης, γεγονός που εξυπηρετεί το διαχωρισμό πολύ μεγάλων μορίων DNA. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιήθηκε και για το διαχωρισμό βακτηριακών χρωμοσωμάτων (Χίνη, 2007), όπως επίσης έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως σε ερευνητικά εργαστήρια και σε επιδημιολογικές μελέτες επιδημικών εξάρσεων. Ωστόσο έχει κάποιους περιορισμούς. Ο πρώτος, είναι το υψηλό κόστος του εξοπλισμού και ο δεύτερος, είναι ο χρόνος που απαιτεί, δεδομένου ότι η διάρκεια της προετοιμασίας και του εγκλεισμού του DNA σε δίσκους αгарόζης είναι 3 ημέρες. Ως τρίτος περιορισμός, θεωρείται η - σε κάποιο βαθμό - υποκειμενική ερμηνεία των αποτελεσμάτων και η δυσκολία που υπάρχει ώστε να συγκριθούν τα αποτελέσματα από διαφορετικά εργαστήρια (Sabat et al., 2013; Γιορμέζης, 2015; Χίνη, 2007).

- **Πολυτοπική Ανάλυση Αλληλουχίας (MultiLocus Sequense Typing, MLST)**

Η MLST είναι μία γενική μέθοδος τυποποίησης, όχι μόνον για βακτήρια, με σκοπό το χαρακτηρισμό των στελεχών σε μοριακό επίπεδο (M. C. Maiden, 2006). Βρήκε εφαρμογή αρχικά το 1998 στη *Neisseria meningitides* (M. C.; Maiden et al., 1998) και στη συνέχεια η χρήση της επεκτάθηκε και σε άλλα είδη βακτηρίων. Στην εν λόγω μέθοδο, ελέγχεται ο πολυμορφισμός των βακτηριακών ενζύμων με βάση την κινητικότητα τους στην ηλεκτροφόρηση. Συγκεκριμένα, στη μέθοδο αυτή ενισχύονται με PCR αλληλουχίες 450-500 bp (base pairs) από συνήθως επτά συντηρημένα γονίδια μεταβολισμού (housekeeping genes) και βρίσκεται η νουκλεοτιδική αλληλουχία (nucleotide sequence). Για κάθε γονιδιακό τμήμα, οι διαφορετικές αλληλουχίες προσδιορίζονται ως ξεχωριστά αλληλόμορφα γονίδια (alleles) και κάθε στέλεχος καθορίζεται από τα αλληλόμορφα των επτά



χρησιμοποιούμενων γονιδίων (allelic profile or sequence type - ST). Ο αριθμός των διαφορών μεταξύ των αλληλόμορφων δεν λαμβάνεται υπόψη. Ως κύριο πλεονέκτημα της μεθόδου, θεωρείται η ευκρίνεια των αποτελεσμάτων και η μεγάλη επαναληψιμότητα. Επίσης, είναι εύκολη η σύγκριση των αποτελεσμάτων μεταξύ διαφορετικών εργαστηρίων, ενώ μπορούμε να συγκρίνουμε τα αποτελέσματα διαφορετικών μελετών μέσω ειδικών διαδικτυακών προγραμμάτων (Γιορμέζης, 2015; Χίνη, 2007). Μειονεκτήματα της μεθόδου αποτελούν το υψηλό κόστος και ο χρόνος που απαιτείται (Sabat et al., 2013).

- **Μονοτοπική Ανάλυση Αλληλουχίας (SingleLocus Sequence Typing – SLST)**

Η SLST βασίζεται στη σύγκριση της αλληλουχίας ενός γονιδίου – στόχου. Διαφέρει επομένως συγκριτικά με την MLST, όπου εκεί χρησιμοποιούνται περισσότερα γονίδια – στόχοι. Χρησιμοποιείται συχνότερα στην ανάλυση του γονιδίου της πρωτεΐνης A του *S. aureus* (spa - typing). Στα πλεονεκτήματά της εντάσσονται το χαμηλό κόστος, η ευκολία στη χρήση, η ταχύτητα και η επαναληψιμότητά της. Μειονεκτήματά της θεωρούνται η χαμηλότερη διακριτική ικανότητα, συγκριτικά με την PFGE και η λανθασμένη κατηγοριοποίηση τύπων που έχουν προκύψει από ανασυνδυασμό του γονιδιώματος των βακτηρίων (Sabat et al., 2013; Γιορμέζης, 2015).

- **Matrix – Assisted Laser Desorption/Ionization Time – Of – Flight Mass Spectrometry (MALDI – TOFF – MS)**

Η MALDI – TOFF αποτελεί πλέον ένα ισχυρό και ευρέως διαδεδομένο αναλυτικό εργαλείο στον τομέα των Επιστημών. Το μεγάλο εύρος της μάζας που μπορεί να επεξεργαστεί, η υψηλή της ακρίβεια και η ευαισθησία της, καθώς και το χαμηλό κόστος των αναλωσίμων της, την καθιστούν την επικρατέστερη τεχνική τυποποίησης μικροοργανισμών. Επίσης, αυτή η μέθοδος εφαρμόζεται στην ανάλυση αλληλουχιών DNA και στον έλεγχο μεταλλάξεων. Τα ανωτέρω, καθιστούν τη MALDI TOFF την επικρατέστερη επιλογή μεθόδου τυποποίησης σε επίπεδο ρουτίνας, τόσο για ερευνητικούς σκοπούς, όσο και για την κλινική πράξη (Lay, 2001).

- **Άλλες Μοριακές Μέθοδοι Τυποποίησης**

Στις άλλες μεθόδους τυποποίησης, περιλαμβάνονται η Amplified Fragment Length Polymorphism - AFLP και η MultiLocus Variable – number tandem repeats Analysis - MLVA. Η AFLP έχει την ίδια διακριτική ικανότητα με την PFGE, αλλά είναι χρονοβόρα και με υψηλό κόστος. Ομοίως, η MLVA δεν χρησιμοποιείται ευρέως λόγω της ανάγκης σχεδιασμού εκκινητών ειδικών για κάθε είδος (Sabat et al., 2013; Γιορμέζης, 2015).

## 2.5. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΩΝ

### 2.5.1. ΛΟΙΜΟΓΟΝΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Όλα τα είδη των σταφυλόκοκκων διαθέτουν παράγοντες που προάγουν την προσκόλληση στα κύτταρα, την καταστροφή των ιστών, τη διείσδυση, την κυτταροτοξικότητα και την παράκαμψη των μηχανισμών άμυνας του ξενιστή (Γιορμέζης, 2015; Χίνη, 2007).

Οι παράγοντες αυτοί μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις κατηγορίες:

- ✓ Παράγοντες της επιφάνειας του κυττάρου
- ✓ Ένζυμα που εκκρίνονται εξωκυττάρια και
- ✓ Εξωτοξίνες (Fluit & Schmitz, 2003; Δημητρακόπουλος, 1987; Χίνη, 2007)

Σε σύγκριση με το *S. aureus*, οι αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι διαθέτουν λιγότερους λοιμογόνους μηχανισμούς και κατ' επέκταση λοιμογόνο δράση. Ωστόσο, υπό κατάλληλες προϋποθέσεις, μπορούν να προκαλέσουν σοβαρή λοίμωξη (Γιορμέζης, 2015).

### 2.5.2. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ

#### 1) Έλκτρο

Αποτελείται από μία πολυσακχαριδική στιβάδα που περιβάλλει το κυτταρικό τοίχωμα. Υπάρχει στο 90% των στελεχών του *S. aureus*. Το έλκτρο επικουρεί τον *S. aureus* να παρακάμψει τον μηχανισμό άμυνας του ξενιστή, καθώς αναστέλλει τη χημειοταξία και τη φαγοκυττάρωση του βακτηρίου από τα πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα, καλύπτοντας επιφανειακές πρωτεΐνες και μόρια. Επίσης, προάγει την προσκόλλησή του σε προσθετικά υλικά (καθετήρες, συνθετικά μοσχεύματα, βαλβίδες) (Crossley & Archer, 1997b; Fluit & Schmitz, 2003; Δημητρακόπουλος, 1987; Χίνη, 2007).

#### 2) Πεπτιδογλυκάνη

Το κυτταρικό τοίχωμα αποτελείται σε ποσοστό 50% από πεπτιδογλυκάνη και σ' αυτήν οφείλεται η στερεότητά του, η οποία καταστρέφεται με την επίδραση της λυσοζύμης ή διαφόρων οξέων. Μάλιστα, η πεπτιδογλυκάνη λειτουργεί αντιγονικά, προκαλώντας την παραγωγή ιντερλευκίνης 1 από τα φαγοκύτταρα και κατ' επέκταση διεγείρει την προσέλευση των πολυμορφοπύρρηνων κυττάρων στο σημείο της φλεγμονής (Ντούτσου, 2005; Παπαπαναγιώτου & Κυριακοπούλου-Δαλαΐνα, 2001).

#### 3) Τειχοϊκά Οξέα

Αποτελούν χαρακτηριστικά συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος των Gram θετικών βακτηρίων. Μέρος των τειχοϊκών οξέων είναι συνδεδεμένα με την πεπτιδογλυκάνη, ενώ άλλα είναι συνδεδεμένα με λιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης (Waldvogel, 1990; Ντούτσου, 2005).

Συμβάλλουν σημαντικά στη λοιμογόνο δράση των σταφυλόκοκκων, καθώς επικουρούν την προσκόλληση των βακτηρίων, τον αποικισμό και την ανάπτυξη της φλεγμονής (Gross, Cramton, Gotz, & Peschel, 2001; Weidenmaier & Peschel, 2008;

Γιορμέζης, 2015). Ειδικότερα, συνδέονται με την ινωδοδεκτίνη (fibronectin) και προάγουν την προσκόλληση του βακτηρίου στους βλεννογόνους του ξενιστή (Fluit & Schmitz, 2003; Gross et al., 2001; Δημητρακόπουλος, 1987; Χίνη, 2007). Επιπλέον, πρόσφατες μελέτες επιβεβαίωσαν το ρόλο των τειχοϊκών οξέων του κυτταρικού τοιχώματος στο σχηματισμό βιολογικών υμενίων ή βιομεμβρανών (biofilm) από στελέχη του *S. epidermidis* (Holland, Conlon, & O'Gara, 2011). Παρόλο που η συμβολή τους στη διαφυγή από το ανοσοποιητικό σύστημα δεν έχει διευκρινιστεί, ο ρόλος τους στο σχηματισμό βιολογικών υμενίων τα καθιστά σημαντικά στην επιβίωση από τους αμυντικούς μηχανισμούς του ξενιστή. Τέλος, ο *S. epidermidis* έχει γονίδια υπεύθυνα για την πραγματοποίηση τροποποίησης στα τειχοϊκά οξέα με την προσθήκη D-αλανίνης, γεγονός που σε άλλα βακτήρια, όπως ο *S. aureus* φαίνεται να προστατεύει από τη δράση αντιμικροβιακών πεπτιδίων (Γιορμέζης, 2015).

#### 4) Πρωτεΐνες Επιφανείας

Πρόκειται για πρωτεΐνες που είναι συνδεδεμένες με την πεπτιδογλυκάνη του κυτταρικού τοιχώματος και ανήκουν στην ομάδα των MSCRAMMs (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules) (Clarke & Foster, 2006; Fluit & Schmitz, 2003; Χίνη, 2007). Οι MSCRAMMs έχουν την ικανότητα να συνδέονται σε μία ή περισσότερες πρωτεΐνες του πλάσματος και του εξωκυττάριου χώρου, ενώ αντίστοιχα και ένας παράγοντας του ξενιστή μπορεί να συνδέεται με περισσότερες από μία MSCRAMMs (Linke & Goldman, 2011).

#### 5) Πρωτεΐνες που Συνδέουν την Ινωδοδεκτίνη

Αυτές οι πρωτεΐνες φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη των φλεγμονών των τραυμάτων, καθώς έχουν την ικανότητα να συνδέονται με την ινωδοδεκτίνη και κατ' επέκταση καθυστερούν την επούλωση (Fluit & Schmitz, 2003; Χίνη, 2007).

#### 6) Πρωτεΐνη A

Στο κυτταρικό τοίχωμα του *S. aureus* ανευρίσκεται επίσης μία πρωτεΐνη, γνωστή ως πρωτεΐνη A. Το μεγαλύτερο μέρος της εν λόγω πρωτεΐνης συνδέεται με την πεπτιδογλυκάνη του κυτταρικού τοιχώματος, ενώ ένα μέρος της παραμένει ελεύθερο. Έχει την ικανότητα να συνδέεται με το Fe τμήμα των ανοσοσφαιρινών IgG, ενώ ομοίως ορισμένες IgM και IgA ανοσοσφαιρίνες αντιδρούν με την πρωτεΐνη A (Δημητρακόπουλος, 1987; Ντούτσου, 2005; Παπαπαναγιώτου & Κυριακοπούλου-Δαλαΐνα, 2001). Η ένωση της πρωτεΐνης A με τις ανοσοσφαιρίνες οδηγεί σε διάφορες ανοσολογικές αντιδράσεις του οργανισμού, όπως η διέγερση των B-λεμφοκυττάρων, η απελευθέρωση ισταμίνης και η αναστολή της οψωνικής δράσης των αντισωμάτων (Μπαρτζάβαλη – Λούκη, 2003). Επιπλέον, η ένωση των πρωτεϊνών A με την IgG γίνεται με τέτοιο τρόπο, ώστε είναι δυνατή η σύνδεση αντιγόνων στην IgG. Αυτή η ιδιότητα, μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην εργαστηριακή διάγνωση για την αναζήτηση αντιγόνων μικροβίων και αναφέρεται ως δοκιμασία επισυγκόλλησης (Δημητρακόπουλος, 1987).

#### 7) Πρωτεΐνες που συνδέουν το κολλαγόνο

Υπάρχει μία πρωτεΐνη του *S. aureus*, που έχει αυτή την ιδιότητα. Τα στελέχη που διαθέτουν την εν λόγω πρωτεΐνη συσχετίζονται με εν τω βάθει λοιμώξεις (Fluit & Schmitz, 2003; Χίνη, 2007).

#### 8) Βιολογικό υμένιο ή βιομεμβράνη (Biofilm)

Το βιολογικό υμένιο ή αλλιώς βιομεμβράνη, είναι μία οργανωμένη κοινότητα μικροβίων, τα οποία βρίσκονται προσκολλημένα σε μία επιφάνεια μέσα σ' ένα εξωκυττάριο στρώμα. Αυτό το στρώμα παρέχει προστασία από τους μηχανισμούς άμυνας του ξενιστή και τα αντιβιοτικά. Πολύ συχνά μάλιστα, η καταπολέμηση των βακτηρίων σε βιολογικό υμένιο απαιτεί αρκετά υψηλότερες συγκεντρώσεις από αυτές που είναι δραστικές κατά ελεύθερων μικροοργανισμών (Costerton, Lewandowski, Caldwell, Korber, & Lappin-Scott, 1995). Ο σχηματισμός της βιομεμβράνης περιλαμβάνει τέσσερα στάδια. Το πρώτο στάδιο ξεκινάει με την προσκόλληση των βακτηρίων σε μία αβιοτική, όπως τα προσθετικά υλικά ή ζώσα επιφάνεια, όπως η εξωκυττάρια ουσία των ιστών. Η προσκόλληση επιτυγχάνεται με τη μεσολάβηση ειδικών πρωτεϊνών, όπως η Atle. Στην προσκόλληση των σταφυλόκοκκων επικουρούν και οι πρωτεΐνες επιφανείας (MSCRAMMs). Στη συνέχεια, ακολουθεί η συσσώρευση των κυττάρων και η παραγωγή βιολογικού υμενίου. Η βιομεμβράνη αποτελείται από πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες, με κύριο συστατικό τον PIA (Polysaccharide Intercellular Adhesin). Το τρίτο στάδιο είναι η ωρίμαση του βιολογικού υμενίου και το τέταρτο είναι η αποκόλληση των βακτηρίων από τη βιομεμβράνη, που έχει ως αποτέλεσμα τη διασπορά τους σε διάφορους ιστούς του σώματος, μέσω της κυκλοφορίας του αίματος. Μηχανισμοί όπως εξωκυττάρια ένζυμα (πρωτεάσες, υδρολάσες σακχάρων, νουκλεάσες) και phenol-soluble modulins (PSMs) συμβάλλουν σ' αυτή τη διαδικασία, κάνοντας τον οργανισμό ακόμα πιο ευάλωτο, καθώς είναι πιθανό να παρουσιαστούν δευτεροπαθείς ή μεταστατικές λοιμώξεις σε διαφορετικές περιοχές (Γιορμέζης, 2015).

### 2.5.3. ENZYMA

Οι σταφυλόκοκκοι εκκρίνουν διάφορα ένζυμα τα οποία συμβάλλουν στη λοιμογόνο δράση τους. Τα σημαντικότερα είναι η πηκτάση, η καταλάση, η ινωδολυσίνη, η υαλουρονιδάση, οι λιπάσες, οι πρωτεάσες και οι νουκλεάσες (Crossley & Archer, 1997; Δημητρακόπουλος, 1987; Χίνη, 2007).

#### 1) Πηκτάση

Η πηκτάση (ή κοαγκουλάση) παράγεται από συγκεκριμένα είδη σταφυλόκοκκου (*S. aureus*, *S. hyicus*, *S. schleiferi*, *S. intermedius*, *S. pseudointermedius*, *S. delphini* και *S. lutrae*) (Sasaki et al., 2010) και αποτελεί βασικό παράγοντα διάκρισης των σταφυλόκοκκων σε πηκτάση θετικούς και πηκτάση αρνητικούς (Sasaki et al., 2010; Χίνη, 2007).

Πιθανότατα προστατεύει τους σταφυλόκοκκους από τη φαγοκυττάρωση ή την καταστροφή τους από άλλα κύτταρα, δημιουργώντας μία κάψα από ινική γύρω τους. Αυτός είναι και ο λόγος που η παραγωγή πηκτάσης είναι συνώνυμη με την παθογένεια του σταφυλόκοκκου (Σαρρής et al.). Ωστόσο, σημειώνεται ότι τα σπάνια στελέχη του *S. aureus* που είναι πηκτάση αρνητικά, είναι επίσης παθογόνα. Πρόκειται για εξωκυττάρια ενζυμική πρωτεΐνη, που προκαλεί πήξη του πλάσματος του ανθρώπου και του κουνελιού, όχι όμως του προβάτου (Ντούτσου, 2005; Σαρρής et al.).

Η πηκτάση διασπάται από τη θρυψίνη και την πεψίνη, ενώ συναντάται σε 2 μορφές, την ελεύθερη και τη συνδεδεμένη. Η ελεύθερη πηκτάση είναι εξωτοξίνη και εκκρίνεται από το σταφυλόκοκκο σε καλλιέργειες ζωμού (Ντούτσου, 2005). Συνδέεται με τον παράγοντα coagulase reacting factor, που μοιάζει με την προθρομβίνη, σχηματίζοντας ένα σύμπλεγμα γνωστό ως σταφυλοθρομβίνη. Το εν λόγω σύμπλεγμα, έχει την ικανότητα να μετατρέψει το ινωδογόνο σε ινώδες. Η συνδεδεμένη πηκτάση, που ομοίως τα περισσότερα στελέχη *S. aureus* παράγουν, μετατρέπει το ινωδογόνο σε ινώδες χωρίς την παρουσία του coagulase reacting factor (Δημητρακόπουλος, 1987; Χίνη, 2007) και είναι ανεξάρτητη από την παραγωγή της ελεύθερης (Ντούτσου, 2005), ενώ τα δύο είδη διαφέρουν αντιγονικά (Δημητρακόπουλος, 1987; Χίνη, 2007). Έχουν ταυτοποιηθεί μέχρι στιγμής 2 συνδεδεμένες πηκτάσες, που μοιάζουν δομικά, αλλά συνδέονται σε διαφορετικό σημείο στο ινωδογόνο. Οι δύο αυτές συνδεδεμένες πηκτάσες φαίνεται να επικουρούν την προσκόλληση του βακτηρίου σε προσθετικά υλικά που έχουν επικάλυψη (Fluit & Schmitz, 2003; Χίνη, 2007).

### **2) Σταφυλοκινάση**

Πρόκειται για ένζυμο που παράγεται από πολλά στελέχη *S. aureus* (T. Foster, 1996; Ντούτσου, 2005). Είναι δυνητικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου και δυνητικός θρομβολυτικός παράγοντας (Δημητρακόπουλος, 1987; Χίνη, 2007). Το σύμπλεγμα σταφυλοκινάσης – πλασμινογόνου παράγει μία πρωτεολυτική δράση, αντίστοιχη της πλασμίνης και κατ' επέκταση διάλυση των θρόμβων της ινικής (T. Foster, 1996; Ντούτσου, 2005).

### **3) Πρωτεάσες**

Οι πρωτεάσες, είναι ένζυμα που καταλύουν τους μηχανισμούς άμυνας του ξενιστή με την αποδόμηση των πρωτεϊνών του, την αποδόμηση των συστατικών του στρώματος (matrix) και την παραγωγή αμινοξέων από την αποδόμηση των πρωτεϊνών (Δημητρακόπουλος, 1987; Χίνη, 2007).

### **4) Θερμοανθεκτική Νουκλεάση**

Πρόκειται για ένζυμο που υδρολύει το DNA. Όπως αναφέρει και η ονομασία του είναι ανθεκτικό στη θέρμανση, καθώς αντέχει για 15 λεπτά στους 100 °C. Παράγεται από τα περισσότερα στελέχη του *S. aureus* και από ορισμένα στελέχη αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων, όπως τον *S. epidermidis*, *S. simulans*, *S. carnosus* και *S. lugdunensis* (Grumann et al., 2011; Γιορμέζης, 2015; Ντούτσου, 2005). Η παραγωγή της θερμοανθεκτικής νουκλεάσης φαίνεται να συνδέεται με την παραγωγή εντεροτοξίνης. Το γεγονός αυτό είναι σημαντικό εργαστηριακά, καθώς η ανίχνευση του ενζύμου είναι ευκολότερη από τον εντοπισμό της εντεροτοξίνης (Ντούτσου, 2005).

### **5) Άλλα Ένζυμα**

Στα ένζυμα που παράγει ο *S. aureus* συμπεριλαμβάνονται η υαλουρονιδάση, η οποία επικουρεί τη διεισδυτικότητά του μέσω της διασπάσεως του υαλουρονικού οξέος, διάφορες λιπάσες, καθώς και β-λακταμάσες. Τα τελευταία ένζυμα παράγονται από στελέχη ανθεκτικά στις πενικιλίνες (Ντούτσου, 2005).

#### 2.5.4. ΤΟΞΙΝΕΣ

Οι σταφυλόκοκκοι παράγουν αρκετές τοξίνες, οι οποίες είναι υπεύθυνες για μία πληθώρα διαταραχών στον άνθρωπο. Οι κυριότερες είναι οι αιμολυσίνες (α, β, γ και δ), οι λευκοκοτονίνες, η τοξίνη του συνδρόμου της τοξικής καταπληξίας, οι εντεροτοξίνες και οι επιδερμολυτικές τοξίνες (Χίνη, 2007).

##### 1) Αιμολυσίνες

Πρόκειται για τοξίνες που διακρίνονται σε 4 τάξεις (α, β, γ και δ).

##### i) Αιμολυσίνη α ή τοξίνη α.

Πρόκειται για τη σημαντικότερη αιμολυσίνη. Δρα σε μεγάλο εύρος κυτταρικών μεμβρανών, όπως των ερυθροκυττάρων, των αιμοπεταλίων και των λευκοκυττάρων, αλλά δε δρα στις κυτταροπλασματικές μεμβράνες των βακτηριδίων (Kloos & Bannerman, 1995). Παράγεται κυρίως από στελέχη ανθρώπου, αλλά και από στελέχη ζώων. Προκαλεί λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων του κουνελιού, του προβάτου και των βοοειδών, όχι όμως του ίππου και του ανθρώπου. Στον άνθρωπο επηρεάζει ιδιαίτερα τα μονοπύρηνια και τα αιμοπετάλια, τόσο με την πρωτογενή της δράση, όσο και δευτερογενώς με την κινητοποίηση φλεγμονωδών παραγόντων (Ντούτσου, 2005). Η ενδοφλέβια έγχυση τοξίνης οδηγεί στο θάνατο, ενώ η υποδόρια έγχυση έχει ως αποτέλεσμα τη νέκρωση του δέρματος σε 12-24 ώρες στα πειραματόζωα που έχει επιχειρηθεί (λευκός ποντικός και κουνέλι) (Σαρρής et al).

##### i) Αιμολυσίνη β ή β-τοξίνη

Παράγεται από πολλά στελέχη του *S.aureus*, ιδίως των ζώων (Χίνη, 2007). Πρόκειται για σφιγγομυελινάση και καταστρέφει τις κυτταρικές μεμβράνες που περιέχουν σφιγγομυελίνη, όπως τα ερυθρά αιμοσφαίρια, τα λευκά αιμοσφαίρια και τους ινοβλάστες. Αιμολύει τα ερυθρά αιμοσφαίρια του προβάτου και σε κάποιες περιπτώσεις του ανθρώπου (T. Foster, 1996; Ντούτσου, 2005). Η αιμολυτική της ικανότητα είναι πιο εμφανής όταν η επώαση συνεχιστεί σε θερμοκρασία δωματίου (ψυχρή-θερμή αιμόλυση) (Σαρρής et al).

##### ii) Αιμολυσίνη γ ή γ-τοξίνη

Ομοίως, παράγεται από τα περισσότερα στελέχη του *S.aureus*, ενώ μπορεί να καταστρέψει ερυθρά και λευκά αιμοσφαίρια διαφόρων θηλαστικών (Menestrina, Serra, & Prevost, 2001; Χίνη, 2007).

##### iii) Αιμολυσίνη δ ή δ-τοξίνη

Παράγεται από το 97% των στελεχών του *S.aureus* και από το 50-70% των αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων (Dinges, Orwin, & Schlievert, 2000; Χίνη, 2007). Είναι τοξίνη ιδιαίτερα υδροφοβική και θερμοάντοχη. Καταστρέφει τις κυτταρικές μεμβράνες με δράση αντίστοιχη του απορρυπαντικού (Rogolsky, 1979; Ντούτσου, 2005). Προκαλεί αιμόλυση των ερυθρών αιμοσφαιρίων πολλών ειδών, αλλά κυρίως του ανθρώπου και του ίππου. Επίσης, προκαλεί νέκρωση του δέρματος στο κουνέλι (Σαρρής et al.). Τέλος, φαίνεται να διαδραματίζει ρόλο σε επεισόδια οξείας διάρροιας σε κουνέλια και ινδικά χοιρίδια (Rogolsky, 1979; Ντούτσου, 2005).

## 2) Λευκοκοκτονίνες

Παράγονται κατά κύριο λόγο από τον *S. aureus* και καταστρέφουν τα λευκά αιμοσφαίρια του ανθρώπου και του κουνελιού (Cribier, Prevost, Couppie, & Piermont, 1992; Ντούτσου, 2005) ενώ μικρό μέρος της ομάδας των λευκοκοκτονινών επιδρούν στα ερυθρά αιμοσφαίρια (Menestrina et al., 2001; Χίνη, 2007). Δρουν συνεργικά με την γ-αιμολυσίνη, συνθέτοντας τοξίνες - υβρίδια, με ευρύτερο φάσμα κυττάρων – στόχων και κατ' επέκταση λοιμογόνου δύναμης (Gouaux, 1998; Menestrina et al., 2001; Morinaga, Kaihou, & Noda, 2003; Von Eiff, Friedrich, Peters, & Becker, 2004; Χίνη, 2007). Στον άνθρωπο, η έγχυση λευκοκοκτονίνης μπορεί να προκαλέσει αναστρέψιμη ακοκκιοκυτταραιμία, ενώ στα κουνέλια η έγχυση μπορεί να προκαλέσει νέκρωση του δέρματος (Cribier et al., 1992; Ντούτσου, 2005). Τέλος, στελέχη *S. aureus* που παράγουν λευκοκοκτονίνες, έχουν απομονωθεί σε κλινικές περιπτώσεις λοιμώξεων των μαλακών μορίων, νεκρωτικής πνευμονίας και εν τω βάθει λοιμώξεων (Chini et al., 2006; Von Eiff et al., 2004).

## 3) Επιδερμολυτικές ή Αποφολιδωτικές Τοξίνες

Στην κατηγορία περιλαμβάνονται 4 ομόλογες τοξίνες (ETA, ETB, ETC, ETD), που παράγονται μόνο από τον *S. aureus* και οι οποίες προκαλούν την επιδερμολυτική νόσο του ανθρώπου (Staphylococcal Scalded Skin Syndrome, SSSS) (Dinges et al., 2000; Ladhani, 2003; Χίνη, 2007). Η νόσος αυτή εκδηλώνεται κυρίως στα βρέφη (νόσος Ritter) (Melish, Glasgow, & Turner, 1972) και σε ενήλικες με υποκείμενη νόσο. Η κλινική εκδήλωση ποικίλλει, από την απλή εμφάνιση φυσαλίδων έως την εκτεταμένη νέκρωση της επιδερμίδας (Crossley & Archer, 1997a; Χίνη, 2007). Τέλος, έχουν αναφερθεί 2 ακόμη τύποι τοξίνης που προσβάλλουν τα ζώα, ενώ η επιδερμολυτική τοξίνη που παράγει ο *S. hyicus* (τοξίνη ShET) είναι υπεύθυνη για την εξιδρωματική επιδερμίτιδα των χοιριδίων (Sato et al., 1994; Sato et al., 1991; Ντούτσου, 2005).

## 4) Εντεροτοξίνες

Πρόκειται για πρωτεϊνικής φύσης εξωτοξίνες, θερμοάντοχες (αντέχουν στους 100 °C επί 15-30 λεπτά) και δεν καταστρέφονται από το ένζυμο θρυψίνη (Σαρρής et al). Επίσης, οι εντεροτοξίνες των σταφυλόκοκκων έχουν ιδιότητες υπεραντιγόνων, δηλαδή έχουν την ικανότητα να συνδέονται με τα μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (Major Histocompatibility Complex - MHC), ενεργοποιώντας τα Τ-λεμφοκύτταρα (Alouf & Muller-Alouf, 2003; Ντούτσου, 2005). Αυτός είναι και ο λόγος που δεν καταστρέφονται από το πεπτικό σύστημα. Στον άνθρωπο προκαλούν νόσο μετά από κατάποση μολυσμένων τροφών (Bergdoll, Huang, & Schantz, 1974; Γιορμέζης, 2015). Οι σταφυλόκοκκοι, κυρίως ο *S. aureus*, παράγουν μία ποικιλία εντεροτοξινών. Εντεροτοξίνες μπορούν να παραχθούν και από κάποιους αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους, όπως τον *S. epidermidis*, τον *S. intermedius* και τον *S. hyicus*. Συγκεκριμένα, μάλιστα, ο *S. intermedius* έχει απομονωθεί από δείγματα βουτύρου και μαργαρίνης σε έξαρση κρουσμάτων τροφικής δηλητηρίασης (Talan, Staats, Goldstein, Singer, & Overturf, 1989), ενώ αντίστοιχα ο *S. epidermidis* έχει συσχετιστεί με πρόκληση γαστρεντερίτιδας στον άνθρωπο. Τα εντεροτοξινογόνα στελέχη σταφυλόκοκκων, μπορούν να προκαλέσουν νόσο όταν βρίσκονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στα μολυσμένα τρόφιμα (Παπαπαναγιώτου & Κυριακοπούλου-Δαλαίνα, 2001), καθώς πολλαπλασιάζονται και παράγουν επαρκή ποσότητα τοξίνης για να προκαλέσουν νόσο. Σημειώνεται, ότι η ποσότητα της τοξίνης που απαιτείται για να προκαλέσει νόσο δεν είναι γνωστή, αν και σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες απαιτούνται τουλάχιστον 100 ng εντεροτοξίνης A, που είναι ο

συχνότερος τύπος (Fraser & Proft, 2008; Γιορμέζης, 2015). Η νόσος εμφανίζεται με συμπτώματα από το πεπτικό (τυπικά γαστρεντερίτιδας) που κλινικά εκδηλώνονται με εμετό, με ή χωρίς διάρροια, κοιλιακό άλγος και εξάντληση, ενώ υψηλός πυρετός και υπόταση εμφανίζονται σπάνια. Τα συμπτώματα εμφανίζονται λίγες ώρες μετά τη βρώση της μολυσμένης τροφής και αυτοπεριορίζονται σε 24 με 48 ώρες (Dinges et al., 2000; Παπαπαναγιώτου & Κυριακοπούλου-Δαλαίνα, 2001; Χίνη, 2007). Χαρακτηριστικό γνώρισμα της νόσου είναι ο εμετός, καθώς η τοξίνη επηρεάζει το κέντρο του εμετού του ΚΝΣ, δρώντας στους αντίστοιχους υποδοχείς του εντέρου (J. Duguid; Ντούτσου, 2005).

#### **5) Τοξίνη του Συνδρόμου Τοξικής Καταπληξίας TSST-1)**

Πρόκειται για εξωτοξίνη διαλυτή στο νερό και ανθεκτικότετη στην πρωτεόλυση και την υψηλή θερμοκρασία. Χαρακτηριστικά, αναφέρεται ότι είναι ικανή να αντέξει σε βρασμό επί μία ώρα χωρίς να χάσει τη δραστηριότητά της. Επίσης, ομοίως με τις εντεροτοξίνες, δεν καταστρέφεται από τη θρυψίνη (Dinges et al., 2000; Γιορμέζης, 2015). Παράγεται κυρίως από στελέχη του *S. aureus*, αν και έχουν αναφερθεί περιπτώσεις του συνδρόμου στις οποίες ενοχοποιούνταν αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι (Cone, Woodard, Schlievert, & Tomory, 1987; Kahler, Boyce, Bergdoll, Lockwood, & Taylor, 1986; Ντούτσου, 2005). Οι αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι απομονώθηκαν από τον κόλπο μίας γυναίκας με σύνδρομο τοξικής καταπληξίας στο Jackson των Η.Π.Α. Οι αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι που απομονώθηκαν ήταν οι: *S. gallinarum*, *S. hominis*, *S. sciuri*, *S. xylosus*, *S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S. haemolyticus*, *S. lentus*, *S. capitis*, *S. caseolyticus*, *S. kloosii* και *S. hyicus*. Οι προαναφερόμενοι αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι επιβεβαιωμένα παρήγαγαν εξωτοξίνη, ενώ δεν απομονώθηκαν θετικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι (Kahler, Boyce, Bergdoll, Lockwood & Taylor, 1986). Αντίστοιχα με τις εντεροτοξίνες, η εν λόγω τοξίνη λειτουργεί ως υπεραντιγόνο, έχοντας την ικανότητα να συνδέεται με το μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας και κατ' επέκταση ενεργοποιώντας τα T-λεμφοκύτταρα (Choi et al., 1989). Επιπλέον, θεωρείται ότι προάγει την παραγωγή του παράγοντα νέκρωσης των όγκων (tumor necrosis factor) και της ιντερλευκίνης 1 (Parsonnet, Hickman, Eardley, & Pier, 1985; Waldvogel, 1990; Ντούτσου, 2005). Η νόσος που προκαλείται από την τοξίνη είναι οξεία και ενδεχομένως θανατηφόρα. Κλινικά, εκδηλώνεται με υψηλό πυρετό, διάχυτο ερυθηματώδες εξάνθημα, υπόταση και πολυσυστηματική ανεπάρκεια (Bannerman, Rhoden, McAllister, Miller, & Wilson, 1997). Ακόμη, προκαλεί απολέπιση του δέρματος 1-2 εβδομάδες μετά την πρόσληψη της τοξίνης, εάν φυσικά δεν έχει επέλθει ο θάνατος νωρίτερα (Χίνη, 2007). Η νόσος περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Todd το 1978 (Todd, Fishaut, Kapral, & Welch, 1978) ενώ έγινε ευρέως γνωστή στη δεκαετία του 80 κατόπιν της επιδημίας της νόσου σε νεαρές γυναίκες στις ΗΠΑ. Για την πρόκληση αυτής της επιδημίας ενοχοποιήθηκε η χρήση βυσμάτων (tampons) έμμηνου ρύσης, η τοποθέτηση των οποίων εισήγαγε οξυγόνο στον κόλπο και έκανε το περιβάλλον ιδανικό για την παραγωγή της εν λόγω τοξίνης (Kass & Parsonnet, 1987; Χίνη, 2007).

Μέχρι στιγμής δεν υπάρχει αποτελεσματική θεραπευτική λύση στη νόσο που προκαλούν οι τοξίνες που δρουν ως υπεραντιγόνα (εντεροτοξίνες, τοξίνη του συνδρόμου της τοξικής καταπληξίας), με εξαίρεση τη χορήγηση ανθρώπινης ανοσοσφαιρίνης ενδοφλεβίως (Darenberg, Soderquist, Normark, & Norrby-Teglund, 2004). Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες (σε ερευνητικό ακόμη στάδιο) φαίνονται ελπιδοφόρες, με τη δημιουργία αντισωμάτων κατά των τοξινών (Grumann et al.,



2011) και τη δημιουργία πεπτιδίων που δεσμεύουν τις θέσεις σύνδεσης των υποδοχέων των κυττάρων, αποτρέποντας τις τοξίνες να προσδεθούν σε αυτές (Krakauer, 2013; Γιορμέζης, 2015).

## **2.6. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΚΑΙ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΑΡΝΗΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΠΗΚΤΑΣΗ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΩΝ (CNS)**

Οι σταφυλόκοκκοι, ως γένος, έχουν ενοχοποιηθεί για την πρόκληση σοβαρών μολύνσεων στους ασθενείς. Ωστόσο, οι αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι δεν είναι γνωστοί για πυογόνες λοιμώξεις σε ανοσοεπαρκείς ασθενείς, ενώ ως μόνη εξαίρεση θα μπορούσε να αναφερθεί η περίπτωση της ενδοκαρδίτιδας φυσικών βαλβίδων. Αυτό, οφείλεται στο γεγονός ότι η παραγωγή τοξινών και ενζύμων είναι μειωμένη. Αντιθέτως, οι αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι, έχουν - όπως έχει ήδη αναφερθεί - την ικανότητα να προσκολλώνται σε διάφορες έμβιες μεμβράνες ή βιοϊατρικά υλικά, σχηματίζοντας σταθερές βιομεμβράνες (biofilms). Μετά την ολοκλήρωση του σχηματισμού της μεμβράνης, η θεραπεία των λοιμώξεων είναι εξαιρετικά δύσκολη, αφού τα βακτηριακά κύτταρα προστατεύονται από τη δράση των αντιβιοτικών και το ανοσολογικό σύστημα. Επιπροσθέτως, γίνεται απελευθέρωση των βακτηριακών κυττάρων στην κυκλοφορία, με αποτέλεσμα να προκληθεί βακτηραιμία και διασπορά της λοίμωξης σε άλλους ιστούς του σώματος (Costerton et al., 1995).

### Ειδικοί Λοιμογόνοι Παράγοντες του *S. lugdunensis*

Ο *S. lugdunensis* λόγω του ότι παράγει αρκετούς λοιμογόνους παράγοντες, θεωρείται περισσότερο παθογόνος από τους άλλους CNS. Η αντίσταση που παρουσιάζει στη λυσοζύμη είναι αρκετά μεγάλη και αποτελεί ένα βασικό ένζυμο του ανοσοποιητικού συστήματος κατά των μικροβιακών λοιμώξεων. Επιπλέον, διαθέτει πρωτεΐνη που δεσμεύει τον παράγοντα vWf (von Willebrand factor) που συμμετέχει σε διάφορα στάδια της πήξης του αίματος, ενώ προκαλεί αιμόλυση των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Ακόμη, παράγει πρωτεΐνη. Η πρωτεΐνη αυτή διαθέτει το γονίδιο AtIL- και έχει την ικανότητα να δεσμεύει το ινωδογόνο. Ουσιαστικά, πρόκειται για μία αυτολυσίνη, η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ισορροπίας, μεταξύ διάσπασης και σύνθεσης της πεπτιδογλυκάνης του κυτταρικού τοιχώματος. Επιπλέον, η πρωτεΐνη αυτή παίζει σημαντικό ρόλο στη διαίρεση των κυττάρων. Παρ' όλα αυτά, η αντοχή του στα αντιβιοτικά δεν είναι τόσο μεγάλη συγκριτικά με τους υπολοίπους, ενώ σχηματίζει βιολογικά βιομεμβράνες κυρίως πρωτεϊνικής φύσης (Γιορμέζης, 2015).

## **2.7. ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΑΠΟ ΑΡΝΗΤΙΚΟΥΣ ΣΤΗΝ ΠΗΚΤΑΣΗ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΟΥΣ (CNS)**

Όπως προαναφέρθηκε, η σημαντικότερη αιτία για την αύξηση των λοιμώξεων με αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους είναι η εκτεταμένη χρήση βιοϊατρικών υλικών, λόγω της ικανότητάς τους να αποικίζουν και να αναπτύσσονται σε αυτά. Κάθε βιοϊλικό που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως προσθετικό υλικό αποτελεί ελκυστικό παράγοντα για λοιμώξεις από CNS και στην περίπτωση αυτή, θα πρέπει να γίνεται αφαίρεση και αντικατάσταση της συσκευής, αφού οι λοιμώξεις αυτού του τύπου είναι αδύνατο να ανασταλλούν από αντιμικροβιακούς παράγοντες (Mack et al., 2006).

Τα πιο συχνά είδη που απομονώνονται, είναι ο επιδερμικός σταφυλόκοκκος (*S. epidermidis*), ο σαπροφυτικός σταφυλόκοκκος (*S. saprophyticus*) και ο αιμολυτικός σταφυλόκοκκος (*S. haemolyticus*). Για παράδειγμα, ο *S. epidermidis* μπορεί να αποτελέσει αίτιο λοιμώξεων σε ασθενείς με ενδοφλέβιους καθετήρες, παρακαμπτήριες αναστομώσεις του ΚΝΣ, προσθετικές βαλβίδες και αρθρώσεις, περιτοναϊκούς καθετήρες κ.α. (Vadyvaloo & Otto, 2005).

Δύο ακόμη λόγοι στους οποίους οφείλεται η παθογένεια και η ανθεκτικότητα των CNS, είναι η εκτεταμένη χρήση αντιβιοτικών ευρέος φάσματος για την πρόληψη και τη θεραπεία λοιμώξεων σε ασθενείς εντός νοσοκομείου και η αύξηση του αριθμού των σοβαρά νοσούντων ασθενών, όπως είναι οι ουδετεροπενικοί ασθενείς, τα άτομα με κακοήθεια, τα πρόωρα νεογνά κ.α.. Τα στελέχη της φυσιολογικής χλωρίδας, έχουν την τάση να γίνονται όλο και πιο ανθεκτικά από την εκτεταμένη χρήση αντιβιοτικών, ενώ η βακτηριαιμία που εμφανίζεται στους προαναφερθέντες ασθενείς, είναι πιθανό να έχει ως πηγή μόλυνσης τον καθετήρα ή το γαστρεντερικό σύστημα του ίδιου του ασθενούς. Συγκεκριμένα, η πιο συχνή αιτία βακτηριαιμίας σε ασθενείς με καρκίνο θεωρείται ο *S. epidermidis*, ενώ το γαστρεντερικό σύστημα αποτελεί παράλληλα δεξαμενή του βακτηρίου σε ασθενείς με λευχαιμία ή μεταμόσχευση μυελού. Σε γενικές γραμμές, οι CNS αποτελούν πλέον αιτιολογικό παράγοντα πάνω από το 70% των ενδονοσοκομειακών βακτηριαιμιών σε πρόωρα νεογνά (Vadyvaloo & Otto, 2005).

### **2.7.1. CNS ΚΑΙ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ**

#### **2.7.1.1. ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΑΠΟ *S. epidermidis***

- ✓ Λοιμώξεις ενδοαγγειακών καθετήρων
- ✓ Λοιμώξεις εγκεφαλονωτιαίας παροχέτευσης
- ✓ Λοιμώξεις καθετήρων περιτοναϊκής διύλισης
- ✓ Μολύνσεις χειρουργικών θέσεων
- ✓ Λοιμώξεις αγγειακών μοσχευμάτων
- ✓ Βακτηριαιμία
- ✓ Παιδιατρικές λοιμώξεις
- ✓ Οφθαλμικές λοιμώξεις

- ✓ Λοιμώξεις δέρματος
- ✓ Λοιμώξεις ουροποιητικού
- ✓ Οστεομυελίτιδα
- ✓ Ενδοκαρδίτιδα φυσικών βαλβίδων
- ✓ Ενδοκαρδίτιδα προσθετικών βαλβίδων

Πιο συγκεκριμένα, ο *S. epidermidis* προσβάλλει πιο συχνά κεντρικές και περιφερικές ενδοφλέβιες γραμμές, καθετήρες τεχνητής διατροφής, υποκλείδιους καθετήρες αιμοκάθαρσης, αλλά και καθετήρες Hickman, Broviac και Swan-Ganz, ενώ έχει ως επιπλοκή τη βακτηριαιμία, η οποία με τη σειρά της μπορεί να προκαλέσει εστίες λοίμωξης σε απομακρυσμένες περιοχές του σώματος. Επιπλέον, έχει συσχετιστεί με λοιμώξεις του ΚΝΣ, οι οποίες παρουσιάζονται συνήθως λίγες εβδομάδες μετά την τοποθέτηση παροχέτευσης. Επίσης, αποτελεί το συχνότερο αίτιο περιτονίτιδας σε ασθενείς που υποβάλλονται σε περιτοναϊκή διάλυση. Όσον αφορά τις μολύνσεις χειρουργικών θέσεων, δεν είναι τόσο συχνές όσο αυτές που οφείλονται στον *S. aureus*, ενώ οι CNS απομονώνονται συχνότερα από επιφανειακές χειρουργικές τομές, παρά από βαθύτερες. Οι λοιμώξεις από εμφύτευση αγγείων κυμαίνονται από 1% έως 6% και εξαρτώνται από την περιοχή της εμφύτευσης, με τις μεταμοσχεύσεις της βουβωνικής χώρας να έχουν τα υψηλότερα ποσοστά μόλυνσης.

Η βακτηριαιμία μπορεί να παρουσιαστεί κυρίως σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς, ενώ όσον αφορά τις παιδιατρικές λοιμώξεις, οι περισσότερες είναι βακτηριαιμίες σε βρέφη νοσηλευόμενα στη Μονάδα Εντατικής Νοσηλείας Νεογνών. Επιπροσθέτως, ο *S. epidermidis* είναι πιθανό να προκαλέσει μετεγχειρητική ενδοφθαλμίτιδα, η οποία εμφανίζεται σε περιπτώσεις εμφύτευσης τεχνητών φακών και διόρθωσης καταρράκτη, ενώ μπορεί να προκαλέσει σε συνδυασμό με άλλα βακτήρια, κύστεις, δοθιήνες, αποστήματα, ακόμα και κακοήγη έξω ωτίτιδα. Όσον αφορά στις λοιμώξεις του ουροποιητικού, δεν εμφανίζονται τόσο συχνά, σχετίζονται συνήθως με τη χρήση καθετήρων και αφορούν ηλικιωμένους ασθενείς μετά από χειρουργείο ουρολιθίασης, μεταμόσχευσης νεφρών ή άλλες παθήσεις του ουροποιητικού. Η οστεομυελίτιδα μπορεί να συμβεί ως επιπλοκή μετά από καρδιοθωρακική επέμβαση ή εμφύτευση προσθετικού υλικού, όπως σε αρθροπλαστική ισχίου ή γόνατος, ενώ οι περιπτώσεις ενδοκαρδίτιδας φυσικών βαλβίδων αποτελούν μόνο το 5%. Τέλος, σε αντίθεση με την ενδοκαρδίτιδα φυσικών βαλβίδων, η ενδοκαρδίτιδα προσθετικών βαλβίδων έχει μεγαλύτερη συχνότητα, με τον *S. epidermidis* να είναι το μοναδικό σχεδόν αίτιο (Γιορμέζης, 2015).

#### **2.7.1.2. ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΑΠΟ *S. haemolyticus***

- ✓ Βακτηριαιμία
- ✓ Περιτονίτιδα
- ✓ Λοιμώξεις τραυμάτων, οστών και αρθρώσεων
- ✓ Ουρολοιμώξεις
- ✓ Λοιμώδης ενδοκαρδίτιδα

Ο *S. haemolyticus* είναι ο δεύτερος σε συχνότητα CNS μετά τον *S. epidermidis*, ο οποίος απομονώνεται από καλλιέργειες αίματος, κυρίως από βρέφη νοσηλευόμενα στη Μονάδα Εντατικής Νοσηλείας Νεογνών. Στα περιστατικά λοιμώξεων που έχουν

καταγραφεί, περιλαμβάνονται βακτηριαμίες, περιτονίτιδες, λοιμώξεις τραυμάτων, οστών και αρθρώσεων, ουρολοιμώξεις και πιο σπάνια λοιμώδης ενδοκαρδίτιδα (Γιορμέζης, 2015).

### **2.7.1.3. ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΑΠΟ *S. lugdunensis***

- ✓ Βακτηριαμία
- ✓ Λοιμώξεις δέρματος και μαλακών μορίων
- ✓ Ενδοκαρδίτιδα φυσικών βαλβίδων
- ✓ Οφθαλμικές λοιμώξεις
- ✓ Περιτονίτιδα
- ✓ Ουρολοιμώξεις
- ✓ Λοιμώξεις στόματος
- ✓ Λοιμώξεις ΚΝΣ
- ✓ Λοιμώξεις οστών και αρθρώσεων

Συγκεκριμένα, προκαλεί ποσοστό 0,3% των βακτηριαμιών από CNS, ενώ αντίθετα, οι λοιμώξεις δέρματος και μαλακών μορίων αποτελούν σημαντικό μέρος των νόσων από *S. lugdunensis*, περιλαμβάνοντας τραύματα, αποστήματα και περιστατικά κυτταρίτιδας. Παράλληλα, είναι πιο πιθανό να προκαλέσει σοβαρή λοίμωξη, καθώς προκαλεί συχνότερα πυώδη εξανθήματα, δοθιήνες και φλεγμονή σμηγματογόνων κύστεων. Η ενδοκαρδίτιδα φυσικών βαλβίδων είναι επιθετική και συχνά σχετίζεται με καταστροφή βαλβίδων και σχηματισμό αποστήματος. Οι περιπτώσεις θανάτων κυμαίνονται σε συχνότητα 50% έως 70%. Επίσης, ο σταφυλόκοκκος αυτός είναι σπάνιο αλλά σημαντικό αίτιο οφθαλμικών λοιμώξεων, ενώ περιτονίτιδα μπορεί να εμφανιστεί σε ασθενείς που υποβάλλονται σε περιτοναϊκή διάλυση ή μετά από καισαρική τομή. Ουρολοιμώξεις παρατηρούνται σπανίως σε παιδιά ή ενήλικες, ενώ ο *S. lugdunensis* έχει απομονωθεί από ασθενείς με οξεία στοματίτιδα και αποστήματα. Τέλος, μηνιγγίτιδα και αποστήματα εγκεφάλου μπορούν να προκληθούν μετά από οδοντική λοίμωξη ή εμβολή στα πλαίσια ενδοκαρδίτιδας, όπως επίσης οστεομυελίτιδα σπονδυλικής στήλης και λοιμώξεις μεσοσπονδύλιων χώρων και προσθετικών αρθρώσεων, ύστερα από αρthroπλαστικές ισχίου ή γόνατος (Γιορμέζης, 2015).

### **3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

#### **3.1. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ**

Για την εκπλήρωση του σκοπού της παρούσας έρευνας, λήφθηκαν 81 δείγματα από τη ρινική κοιλότητα τεταρτοετών φοιτητών του Τμήματος Κτηνιατρικής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, το Νοέμβριο και το Δεκέμβριο του 2015. Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε με βαμβακοφόρους στυλεούς σε υπόστρωμα Sterile Transport Swabs STUART (FL MEDICAL Torreglia (PD) Italy). Παράλληλα με τη δειγματοληψία συμπληρώθηκε ερωτηματολόγιο (Παράρτημα Ι) ώστε να καταγραφούν δημογραφικά και άλλα στοιχεία για τους συμμετέχοντες.

Τα προσωπικά δεδομένα των συμμετεχόντων, συγκεκριμένα των φοιτητών που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη, έχουν παραμείνει απόρρητα, καθώς προορίζονται μόνο για χρήση τους από την ομάδα που τα μελετά.

### **3.2. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΩΝ ΑΡΝΗΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΠΗΚΤΑΣΗ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΩΝ**

Οι βαμβανοφόροι στυλεοί μετά τη δειγματοληψία, τοποθετήθηκαν σε σωλίνες με 10 ml Tryptone Soy broth (Lab M Limited, Heywood, Lancashire, UK) + 2,5% NaCl. Η επώαση των δειγμάτων έγινε στους 35 °C και είχε διάρκεια 24 ωρών.

Η απομόνωση των αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων, έγινε μετά την ολοκλήρωση της επώασης σε τρυβλία με Mannitol Salt agar (PH EUR-USP, biolab, Budapest, Hungary) και Baird Parker agar (LAB 285. Lab M Limited, Heywood, Lancashire, UK) + Egg Yolk. Με την ολοκλήρωση της επώασης, έγινε επιλογή 2-3 χαρακτηριστικών αποικιών από κάθε τρυβλίο, οι οποίες μεταφέρθηκαν σε Tryptone Soy agar όπου και επώασθηκαν στους 35 °C για 24 ώρες. Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Υγιεινής Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης, του Τομέα Υγιεινής και Τεχνολογίας Τροφίμων Ζ.Π. του Τμήματος Κτηνιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Α.Π.Θ..

### **3.3. ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΜΕ MALDI-TOFF**

Μετά την ολοκλήρωση της απομόνωσης, επιλέχθηκαν καθαρές μεμονωμένες αποικίες, οι οποίες εξετάσθηκαν με τη μέθοδο MALDI-TOFF MS. Η εξέταση με MALDI-TOFF πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Επιδημιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, οι αποικίες των δειγμάτων που έχουμε συλλέξει, καλλιεργούνται σε αιματούχο άγαρ, στους 37 °C, κάτω από αερόβιες συνθήκες και διαλύονται σε 300 μL δισαπεσταγμένου νερού, στο οποίο έχουν προστεθεί 900 μL καθαρής αιθανόλης. Το μίγμα φυγοκεντρείται στις 12000 στροφές για 2 λεπτά και το υπερκείμενο απορρίπτεται. Ακολούθως, 10 μL μυρμηκικού οξέος (70%) προστίθενται και αναμειγνύονται έντονα με μία πιπέτα πριν την προσθήκη 10 μL ακετονιτρίλιου στο μίγμα. Το μίγμα φυγοκεντρείται ξανά στις 12000 στροφές για 2 λεπτά. Ένα μικρόλιτρο από το υπερκείμενο τοποθετείται σε ένα χαλύβδινο δίσκο και αφήνεται να στεγνώσει σε θερμοκρασία δωματίου. Κάθε δείγμα υπερκαλύπτεται με 2 μL κορεσμένου διαλύματος α-κυανο-4-υδροξυ-κινναμωμικού (3 φαινυλο – 2 προπενοικού) οξέος σε 50% ακετονιτρίλιο – 2,5% τριφλουρο – οξικό οξύ και αφήνεται να στεγνώσει σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, βάζουμε τα δείγματα στο μηχάνημα του MALDI – TOFF προς ανάλυση. Το δείγμα μας θεωρείται αξιόπιστο όταν το σκορ που προκύπτει μετά την ανάλυση των δειγμάτων από το μηχάνημα του MALDI- TOFF είναι μεγαλύτερο ή ίσο από τον αριθμό 2000. Γενικά, θεωρούμε ότι το δείγμα μας είναι πιο αποδεκτό, πιο αξιόπιστο, όσο πιο κοντά είναι το σκορ του στον αριθμό 2000.



### **3.4. ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ**

Η καταχώρηση των αναλυτικών αποτελεσμάτων και των απαντήσεων στα ερωτηματολόγια έγινε σε φύλλα του προγράμματος Microsoft Excel για περαιτέρω επεξεργασία. Οι μέσες τιμές (mean), οι τυπικές αποκλίσεις (Standard Deviation=SD), οι διάμεσοι (median) και τα ενδοτεταρτημοριακά εύρη (interquartile range) χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή των ποσοτικών μεταβλητών. Οι απόλυτες (N) και οι σχετικές (%) συχνότητες χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή των ποιοτικών μεταβλητών. Για τη σύγκριση αναλογιών χρησιμοποιήθηκε το Pearson's  $\chi^2$  test ή το Fisher's exact test, όπου ήταν απαραίτητο το καθένα. Τα επίπεδα σημαντικότητας είναι αμφίπλευρα και η στατιστική σημαντικότητα τέθηκε στο 0,05. Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 19.0.

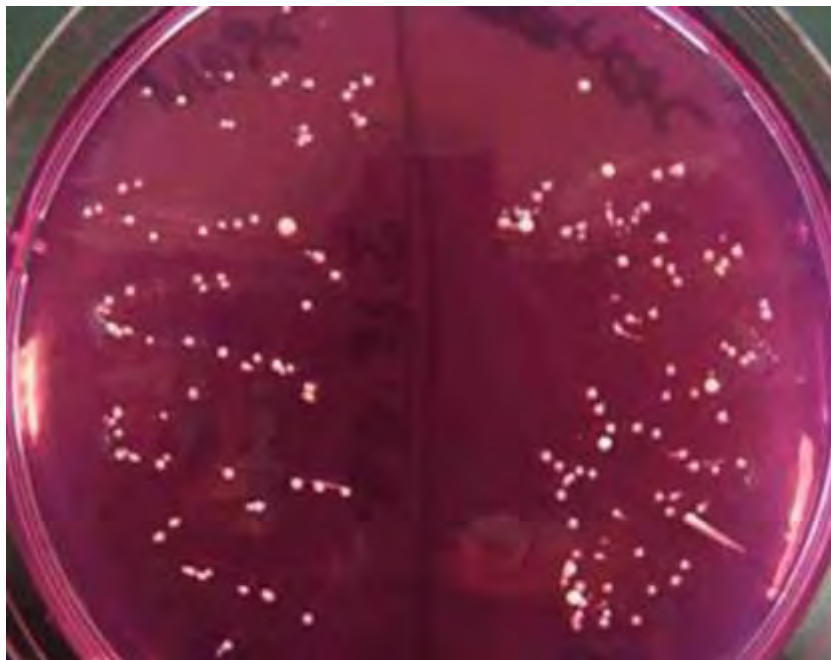
## 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 4.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ

Από τα 81 δείγματα που ελήφθησαν από τους φοιτητές της Κτηνιατρικής, απομονώθηκαν συνολικά 59 δείγματα με σταφυλόκοκκο. Συνολικά δηλαδή, 59/81 φοιτητές (72,8%) ήταν θετικοί στο γένος σταφυλόκοκκου.

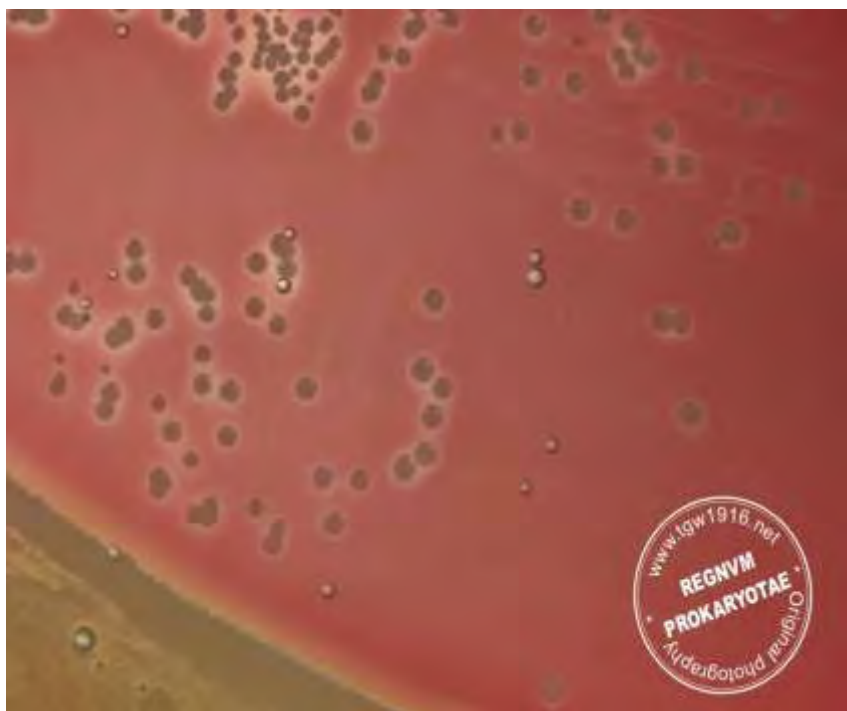
Η μορφολογία των αποικιών που απομονώθηκαν, σίγουρα χρησίμευσε ως επιπλέον στοιχείο στην απομόνωση και την ταυτοποίηση των επιμέρους ειδών σταφυλόκοκκου.

Στις παρακάτω εικόνες φαίνονται ενδεικτικά κάποιες αποικίες χαρακτηριστικές του κάθε είδους που απομονώθηκε.



Αποικίες *S.epidermidis* σε Mannitol Salt άγαρ

Πηγή: <http://www.scienceprofonline.com/science-image-libr/sci-image-libr-mannitol-salt-agar.html>



Αποικίες *S.haemolyticus* σε Tryptone Soy άγαρ

Πηγή: <http://www.tgw1916.net/Staphylococcus/haemolyticus.html>

## 4.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ MALDI – TOF

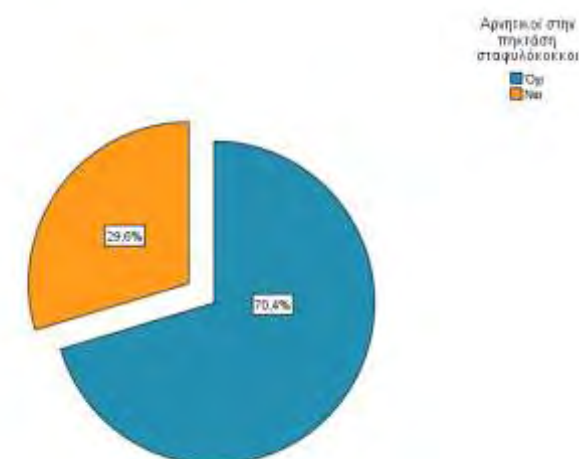
Από τα 59 στελέχη, τα οποία απομονώθηκαν με σταφυλόκοκκο, μετά την ανάλυσή τους στο MALDI-TOFF, συνολικά ταυτοποιήθηκαν 28 στελέχη με αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους.

Στον πίνακα που ακολουθεί (πίνακας 3) παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα της εξέτασης των δειγμάτων, που ταυτοποιήθηκαν στο μηχάνημα του MALDI-TOFF και στα οποία βρέθηκαν αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι με τα σχετικά σκορ αξιοπιστίας.

Πίνακας III. Αποτελέσματα δειγμάτων αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων στους φοιτητές Κτηνιατρικής

	A/A δείγματος	Είδος αρνητικού στην πηκτάση σταφυλόκοκκου	Score αξιοπιστίας
1	A.13.1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2,048
2	A.14.2	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2,159
3	A.19.1	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2,115
4	A.21.1	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2,162
5	B.1.1	<i>Staphylococcus warneri</i>	1,920
6	B.5.2	<i>Staphylococcus warneri</i>	1,945
7	B.6.1	<i>Staphylococcus warneri</i>	1,926
8	B.6.3	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2,010
9	B.7.2	<i>Staphylococcus capitis</i>	2,134
10	B.8.1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,906
11	B.10.1	<i>Staphylococcus warneri</i>	1,753
12	B.10.2	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1,902
13	B.11.1	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2,159
14	B.12.2	<i>Staphylococcus warneri</i>	2,206
15	B.12.3	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1,701
16	B.13.2	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2,028
17	Γ.9.1	<i>Staphylococcus warneri</i>	1,852
18	Γ.10.2	<i>Staphylococcus warneri</i>	1,944
19	Γ.11.1	<i>Staphylococcus warneri</i>	1,931
20	Γ.12.2	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1,862
21	Γ.18.2	<i>Staphylococcus warneri</i>	2,010
22	Γ.21.3	<i>Staphylococcus warneri</i>	1,961
23	Γ.23.1	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2,111
24	Δ.4.1	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1,888
25	Δ.5.2	<i>Staphylococcus warneri</i>	1,829
26	Δ.5.3	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2,167
27	Δ.9.1	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2,240
28	Δ.16	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1,921

Συγκεκριμένα, σε 24/81 (29,6%) συμμετέχοντες βρέθηκαν αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι, όπως φαίνεται και στο ακόλουθο γράφημα (γράφημα 6).



**Γράφημα I. Αρνητικοί στην πήκταση σταφυλόκοκοι**

Παρακάτω, στον πίνακα 4 δίνονται αναλυτικά οι αρνητικοί στην πήκταση σταφυλόκοκοι που ανευρέθηκαν στους συμμετέχοντες, καθώς και τα ποσοστά της ρινικής φορέας αυτών.

**Πίνακας IV. Αρνητικοί στην πήκταση σταφυλόκοκοι (όπου N=αριθμός ατόμων)**

Αποτέλεσμα	N	%
<i>Staphylococcus warneri</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	8,3
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> , <i>Staphylococcus warneri</i>	2	8,3
<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1	4,2
<i>Staphylococcus capitis</i>	1	4,2
<i>Staphylococcus warneri</i>	7	29,2
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	9	37,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	8,3

Από τους φοιτητές που ήταν θετικοί σε αρνητικούς στην πήκταση σταφυλόκοκκους, το 45,8% είχε *S. haemolyticus*, το 45,8% είχε *S. warneri*, το 16,6% *S. epidermidis*, το 4,2% *S. pasteurii* και το 4,2% *S. capitis*.

Συνολικά, και παρατηρώντας τους πίνακες 3 και 4 βλέπουμε ότι απομονώθηκαν 11 στελέχη με *S.warneri*, 4 στελέχη με *S.epidermidis*, 11 στελέχη με *S.haemolyticus*, 1 στέλεχος με *S.capitis* και 1 στέλεχος με *S. pasteurii* (συνολικά 28 στελέχη).

Επίσης, από τα δεδομένα του πίνακα 3 βλέπουμε ότι σε 4 περιπτώσεις φοιτητών κτηνιατρικής, βρέθηκε διπλή ρινική φορεία από αρνητικούς στην πήκταση σταφυλόκοκκους (φοιτητές B6, B10, B12 και Δ5) .



Εικόνα: Το μηχάνημα του MALDI TOFF

Πηγή: [https://en.wikipedia.org/wiki/Matrix-assisted\\_laser\\_desorption/ionization](https://en.wikipedia.org/wiki/Matrix-assisted_laser_desorption/ionization)

### 4.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟΥ

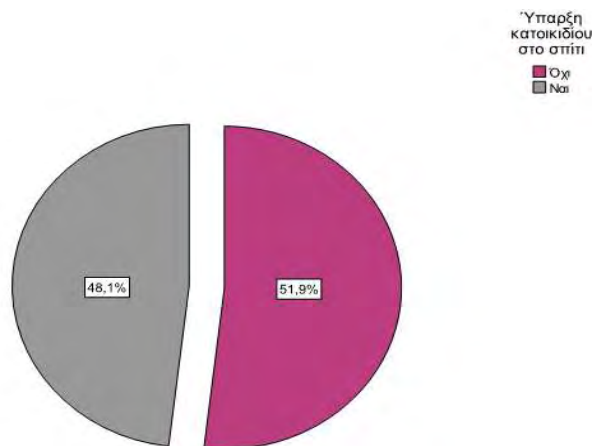
Στον πίνακα που ακολουθεί (πίνακας 5) δίνονται δημογραφικά στοιχεία των συμμετεχόντων σύμφωνα με το ερωτηματολόγιο, που συμπληρώθηκε από τους ίδιους ταυτόχρονα με τη διενέργεια της δειγματοληψίας, καθώς και τα ποσοστά εκείνων που παρακολούθησαν κλινικά μαθήματα και εκείνων που έχουν κατοικίδιο.

Πίνακας V. Δημογραφικά στοιχεία συμμετεχόντων

		N	%
<b>Φύλο</b>	Άντρες	43	53,1
	Γυναίκες	38	46,9
<b>Ηλικία</b>	18-20	3	3,7
	20-22	51	63,0
	22-24	20	24,7
	>24	7	8,6
<b>Χρονιά εισαγωγής στην κτηνιατρική σχολή</b>	2008	1	1,2
	2009	2	2,5
	2010	1	1,2
	2011	2	2,5
	2012	74	91,4
	2013	1	1,2
<b>Παρακολούθηση κλινικών μαθημάτων</b>	Όχι	0	0,0
	Ναι	81	100,0
<b>Αν ναι, πόσο καιρό πριν</b>	1 έτος	31	38,3
	1,5 έτος	15	18,5
	2 έτη	22	27,2
	3 έτη	1	1,2
	3 μήνες	2	2,5
	4 έτη	1	1,2
	Συνεχίζουν	2	2,5
<b>Ύπαρξη κατοικίδιου στο σπίτι</b>	Όχι	42	51,9
	Ναι	39	48,1
<b>Αν ναι, τι είδος</b>	Γάτα	10	12,3
	Κουνέλι	1	1,2
	Κουνέλι, χάμστερ	1	1,2
	Σκίουρος	1	1,2
	Σκύλος	17	21,0
	Σκύλος, Γάτα	5	6,2

Το 53,1% των φοιτητών ήταν άντρες. Επίσης, το 63,0% ήταν άτομα ηλικίας 20-22 ετών. Η πλειοψηφία των συμμετεχόντων είχαν εισαχθεί στη σχολή το 2012, με το ποσοστό να φτάνει το 91,4%. Όλοι οι φοιτητές είχαν παρακολουθήσει κλινικά μαθήματα, με την πλειοψηφία αυτών να τα έχουν παρακολουθήσει το πολύ 2 χρόνια πριν (84,0%). Ακόμα, το 48,1% των συμμετεχόντων είχαν κατοικίδιο στο σπίτι και μάλιστα το 27,2% είχε σκύλο.

Στο γράφημα που ακολουθεί (γράφημα 2) δίνονται τα ποσοστά των φοιτητών που είχαν κατοικίδιο στο σπίτι.



**Γράφημα Π. Ύπαρξη κατοικίδιου**

Στον πίνακα (πίνακα 6) που ακολουθεί, δίνονται στοιχεία που αφορούν σε προηγούμενες επισκέψεις και νοσηλείες των συμμετεχόντων.

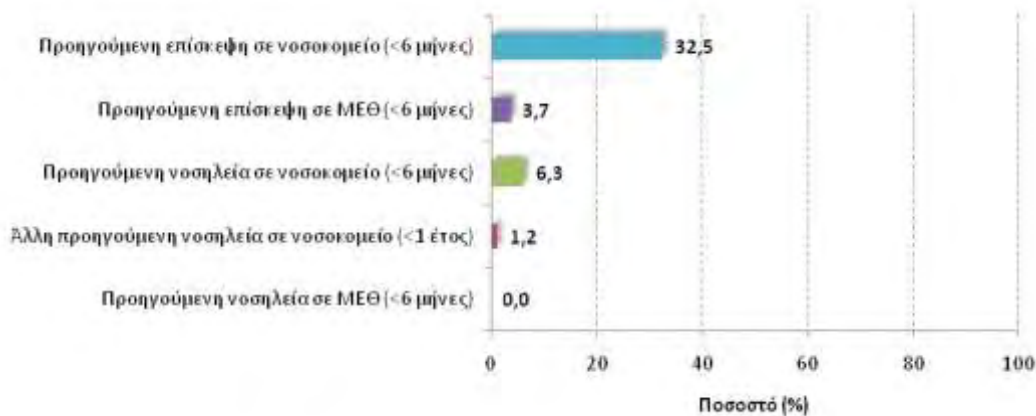
**Πίνακας VI. Επισκέψεις/ νοσηλείες**

		N	%
Προηγούμενη επίσκεψη σε νοσοκομείο (<6 μήνες)	Όχι	54	67,5
	Ναι	26	32,5
Αν ναι, πόσες φορές, μέση τιμή (SD) διάμεσος (ενδ. εύρος)		2,0 (2,3)	1 (1 - 2)
Προηγούμενη επίσκεψη σε ΜΕΘ (<6 μήνες)	Όχι	78	96,3
	Ναι	3	3,7
Αν ναι, πόσες φορές, μέση τιμή (SD) διάμεσος (ενδ. εύρος)		1,0 (0,0)	1 (1 - 1)
Προηγούμενη νοσηλεία σε νοσοκομείο (<6 μήνες)	Όχι	75	93,8
	Ναι	5	6,3
Χρόνος παραμονής	1 Βδομάδα	1	1,2
	1 Μέρα	1	1,2
	3 μέρες	1	1,2
	4 Μέρες	1	1,2
	6 μέρες	1	1,2
Άλλη προηγούμενη νοσηλεία σε νοσοκομείο (<1 έτος)	Όχι	80	98,8
	Ναι	1	1,2
Χρόνος παραμονής	1 Βδομάδα	1	1,2
Προηγούμενη νοσηλεία σε ΜΕΘ (<6 μήνες)	Όχι	81	100,0
	Ναι	0	0,0

Το 32,5% των συμμετεχόντων είχαν επισκεφτεί νοσοκομείο το τελευταίο εξάμηνο, με μέσο όρο επισκέψεων 1 (1-2). Επίσης, το 3,7% των συμμετεχόντων είχαν επισκεφτεί τη ΜΕΘ το τελευταίο εξάμηνο, με μέσο όρο επισκέψεων 1 (1-1). Το 6,3% των φοιτητών είχαν νοσηλευτεί σε νοσοκομείο το τελευταίο εξάμηνο και μόνο ένας (1,2%) είχε νοσηλευτεί ξανά σε νοσοκομείο το περασμένο έτος. Κανείς δεν είχε νοσηλευτεί σε ΜΕΘ το τελευταίο εξάμηνο.

Στο γράφημα που ακολουθεί (γράφημα 3), δίνονται τα ποσοστά των επισκέψεων και των νοσηλείων των συμμετεχόντων σε νοσοκομείο ή ΜΕΘ.





Γράφημα III. Επισκέψεις/νοσηλείες

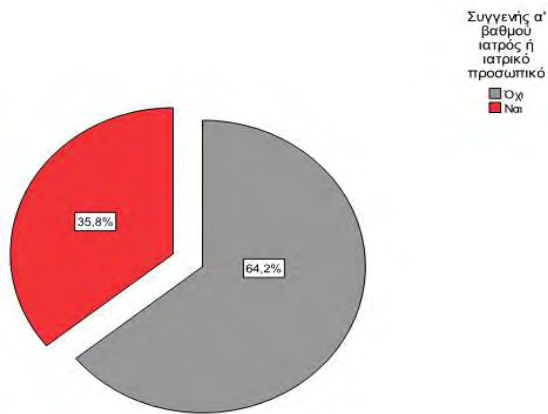
Στον πίνακα που ακολουθεί (πίνακας 7), δίνονται τα ποσοστά των συμμετεχόντων που είχαν συγγενή α' βαθμού ιατρό ή ιατρικό προσωπικό.

Πίνακας VII. Συγγενείς ιατροί

		N	%
Συγγενής α' βαθμού ιατρός ή ιατρικό προσωπικό	Όχι	52	64,2
	Ναι	29	35,8
Ειδικότητα	Ακτινολόγος	1	1,2
	Ιατρός	1	1,2
	Κτηνιατρική	1	1,2
	Κτηνίατρος	4	4,9
	Μικροβιολόγος	2	2,5
	Μικροβιολόγος, Οδοντίατρος	1	1,2
	Νευροχειρουργός	1	1,2
	Νοσηλεύτης	2	2,5
	Νοσηλεύτρια	3	3,7
	Οδοντίατρος	2	2,5
	Ορθοπαιδικός Χειρουργός	1	1,2
	Οφθαλμίατρος, Οδοντίατρος	1	1,2
	Παθολόγος	1	1,2
	Παιδίατρος	1	1,2
	Φυσικοθεραπεύτρια	1	1,2
	Χειριστής Ιατρικών Μηχανμάτων	1	1,2
	Ψυχίατρος	1	1,2
	ΩΡΛ	1	1,2

Το 35,8% των συμμετεχόντων είχε συγγενή α' βαθμού ιατρό ή ιατρικό προσωπικό.

Στο παρακάτω γράφημα (γράφημα 4), δίνονται τα ποσοστά των συμμετεχόντων που είχαν συγγενή α' βαθμού ιατρό ή ιατρικό προσωπικό.



**Γράφημα IV. Συγγενείς ιατροί**

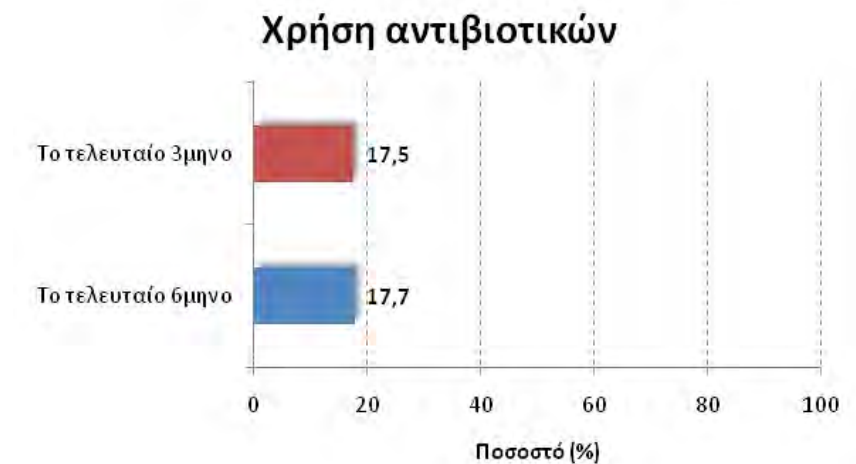
Στον πίνακα που ακολουθεί (πίνακας 8), δίνονται στοιχεία που αφορούν στη λήψη αντιβιοτικών από τους συμμετέχοντες.

**Πίνακας VIII. Χρήση αντιβιοτικών**

		N	%
<b>Χρήση αντιβιοτικών (&lt;3 μήνες)</b>	Όχι	66	82,5
	Ναι	14	17,5
<b>Είδος</b>	Augmentin	2	2,5
	Ceclor C	1	1,2
	Ciproxin, procef, μεφοξίλ, αμικάνι	1	1,2
	Ponstan	1	1,2
	Vibramicin	1	1,2
	Zinadol	1	1,2
	Αμοξυκιλίνη, Κλαβουλανικό	1	1,2
	Για στοματοφαρυγγική ασηψία	1	1,2
<b>Χρήση αντιβιοτικών (&lt;6 μήνες)</b>	Όχι	65	82,3
	Ναι	14	17,7
<b>Είδος</b>	Ceclor C, Dalacin	1	1,2
	Ciproxin, furolin, amoxil, zinadol	1	1,2
	Ponstan	1	1,2
	Zinadol	1	1,2
	Αμοξυκυλλίνη	1	1,2

Το 17,5% των συμμετεχόντων είχε κάνει χρήση αντιβιοτικών τους τελευταίους 3 μήνες και το 17,7% το τελευταίο εξάμηνο.

Στο γράφημα που ακολουθεί (γράφημα 5), δίνονται τα ποσοστά των συμμετεχόντων που πήραν αντιβιοτικά το τελευταίο 3μηνο και 6μηνο.



**Γράφημα V. Χρήση αντιβιοτικών**

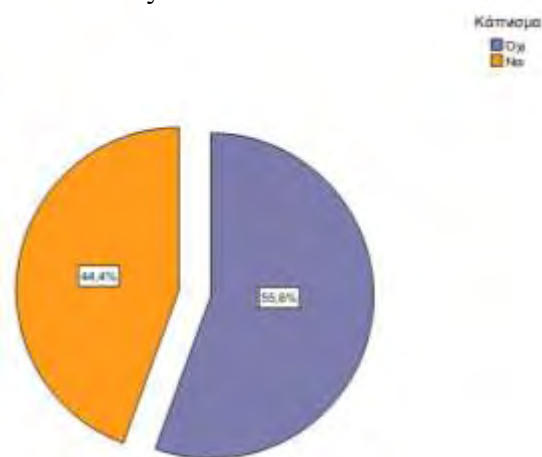
Στον πίνακα που ακολουθεί (πίνακας 9), δίνονται στοιχεία που αφορούν στις καπνιστικές συνήθειες των συμμετεχόντων.

**Πίνακας ΙΧ. Καπνιστικές συνήθειες**

		N	%
<b>Κάπνισμα</b>	Όχι	45	55,6
	Ναι	36	44,4
<b>Συχνότητα καπνίσματος</b>	Τακτικά	11	40,7
	Περιστασιακά	16	59,3

Το 44,4% των συμμετεχόντων κάπνιζε και το 40,7% αυτών κάπνιζε τακτικά.

Στο γράφημα που ακολουθεί (γράφημα 6) δίνεται το ποσοστό των συμμετεχόντων που καπνίζουν.



**Γράφημα VI. Καπνιστές**

Στον πίνακα που ακολουθεί (πίνακας 10) δίνονται στοιχεία από το ατομικό ιστορικό των φοιτητών.

**Πίνακας Χ. Ατομικό ιστορικό**

		N	%
Χειρουργική επέμβαση (<1 έτος)	Όχι	72	88,9
	Ναι	9	11,1
Είδος	Αφαίρεση ελιάς	1	1,2
	Εξαγωγή φρονιμής	2	2,5
	Ρινικό διάφραγμα	1	1,2
	Σκωληκοειδίτιδα	2	2,5
Υπαρξη γνωστής υποκείμενης αναπνευστικής νόσου	Όχι	68	85,0
	Ναι	12	15,0
Είδος	Αλλεργία	1	1,2
	Αλλεργικό άσθμα	1	1,2
	Άσθμα	2	2,5
	Βρογχικό άσθμα	1	1,2
	Ιγμορίτιδα	1	1,2
	Συνάχι	3	3,7
	Χρόνια Βρογχίτιδα	1	1,2
	Χρόνια ρινίτιδα	1	1,2
Υπαρξη άλλης γνωστής υποκείμενης νόσου	Όχι	74	91,4
	Ναι	7	8,6
Είδος	Myasthenia Gravis	1	1,2
	Αντιθυροειδικά αντισώματα	1	1,2
	Ελκωτική Κωλίτιδα	1	1,2
	Ουρολοίμωξη	1	1,2
	Πυώδης Αμυγδαλίτιδα	1	1,2
	Πρόπτωση μητροειδούς Βαλβίδας	1	1,2
	Σιδηροπενική Αναιμία	1	1,2
Υπαρξη δερματικής νόσου/λοίμωξης (<6 μήνες)	Όχι	76	93,8
	Ναι	5	6,2

Το 11,1% των συμμετεχόντων είχε υποβληθεί σε χειρουργική επέμβαση το τελευταίο έτος. Επίσης, το 15,0% των συμμετεχόντων έπασχε από γνωστή υποκείμενη αναπνευστική νόσο, το 8,6% από άλλη γνωστή υποκείμενη νόσο και το 6,2% από δερματική νόσο/λοίμωξη.

Στον πίνακα που ακολουθεί (πίνακας 11), δίνονται τα ποσοστά των συμμετεχόντων που ήταν θετικοί σε αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους, ανάλογα με δημογραφικά και λοιπά τους χαρακτηριστικά.

**Πίνακας ΧΙ. Αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι**

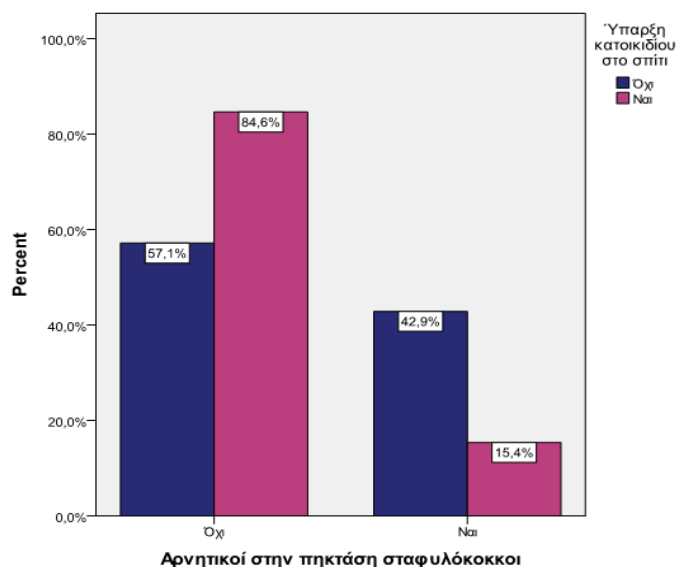
		Αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι				P Pearson's x <sup>2</sup> test
		Όχι		Ναι		
		N	%	N	%	
Φύλο	Άντρες	27	62,8	16	37,2	0,112
	Γυναίκες	30	78,9	8	21,1	
Ηλικία	18-22	38	70,4	16	29,6	1,000
	>22	19	70,4	8	29,6	
Υπαρξη κατοικιδίου στο σπίτι	Όχι	24	57,1	18	42,9	<b>0,007</b>

	Ναι	33	84,6	6	15,4	
Προηγούμενη επίσκεψη σε νοσοκομείο (<6 μήνες)	Όχι	34	63,0	20	37,0	<b>0,048</b>
	Ναι	22	84,6	4	15,4	
Προηγούμενη επίσκεψη σε ΜΕΘ (<6 μήνες)	Όχι	54	69,2	24	30,8	0,551*
	Ναι	3	100,0	0	0,0	
Προηγούμενη νοσηλεία σε νοσοκομείο (<6 μήνες)	Όχι	52	69,3	23	30,7	1,000*
	Ναι	4	80,0	1	20,0	
Άλλη προηγούμενη νοσηλεία σε νοσοκομείο (<1 έτος)	Όχι	56	70,0	24	30,0	1,000*
	Ναι	1	100,0	0	0,0	
Συγγενής α' βαθμού ιατρός ή ιατρικό προσωπικό	Όχι	33	63,5	19	36,5	0,068
	Ναι	24	82,8	5	17,2	
Χειρουργική επέμβαση (<1 έτος)	Όχι	50	69,4	22	30,6	0,718*
	Ναι	7	77,8	2	22,2	
Χρήση αντιβιοτικών (<3 μήνες)	Όχι	47	71,2	19	28,8	0,749*
	Ναι	9	64,3	5	35,7	
Χρήση αντιβιοτικών (<6 μήνες)	Όχι	47	72,3	18	27,7	0,338*
	Ναι	8	57,1	6	42,9	
Κάπνισμα	Όχι	34	75,6	11	24,4	0,253
	Ναι	23	63,9	13	36,1	
Συχνότητα καπνίσματος	Τακτικά	9	81,8	2	18,2	0,405*
	Περιστασιακά	10	62,5	6	37,5	
Ύπαρξη γνωστής υποκείμενης αναπνευστικής νόσου	Όχι	45	66,2	23	33,8	0,096*
	Ναι	11	91,7	1	8,3	
Ύπαρξη άλλης γνωστής υποκείμενης νόσου	Όχι	51	68,9	23	31,1	0,668*
	Ναι	6	85,7	1	14,3	
Ύπαρξη δερματικής νόσου/λοίμωξης (<6 μήνες)	Όχι	53	69,7	23	30,3	1,000*
	Ναι	4	80,0	1	20,0	

\*Fisher's exact test

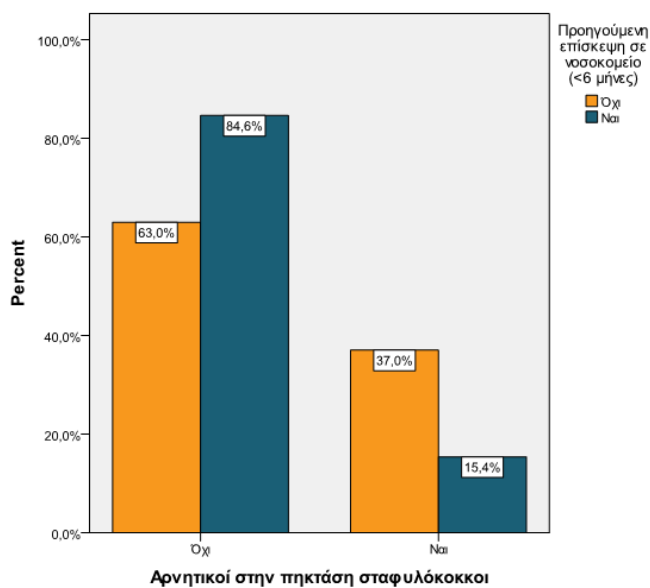
Οι συμμετέχοντες που είχαν κατοικίδιο, ήταν σε σημαντικά χαμηλότερο ποσοστό θετικοί σε αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους σε σύγκριση με τους συμμετέχοντες που δεν είχαν κατοικίδιο. Ακόμα, οι συμμετέχοντες που είχαν επισκεφτεί νοσοκομείο το τελευταίο 6μηνο, ήταν σε σημαντικά χαμηλότερο ποσοστό θετικοί σε αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους σε σύγκριση με τους συμμετέχοντες που δεν είχαν επισκεφτεί νοσοκομείο το τελευταίο 6μηνο.

Στο γράφημα που ακολουθεί (γράφημα 7), δίνονται τα ποσοστά των συμμετεχόντων που ήταν θετικοί σε αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους ανάλογα με το αν είχαν κατοικίδιο ή όχι.



**Γράφημα VII. Αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι και κατοικίδιο**

Στο γράφημα που ακολουθεί (γράφημα 8), δίνονται τα ποσοστά των συμμετεχόντων που ήταν θετικοί σε αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους, ανάλογα με το αν είχαν επισκεφτεί νοσοκομείο το τελευταίο 6μηνο.



**Γράφημα VIII. Αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι και νοσοκομείο**

## 5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν ελάχιστες αναφορές σχετικά με τον επιπολασμό των CPS στον άνθρωπο και ιδιαίτερα στη ρινική κοιλότητα επαγγελματιών υγείας όπως ιατρικού και κτηνιατρικού προσωπικού, φοιτητών επιστημών υγείας κλπ. Είναι γνωστό ότι οι ρινικές κοιλότητες αποτελούν μία σημαντική δεξαμενή μικροβίων ικανών να προκαλέσουν ενδογενή λοίμωξη. Μάλιστα, σύμφωνα με μία πρόσφατη εκτεταμένη μελέτη, που αφορούσε τον πληθυσμό της Γερμανίας, η ρινική κοιλότητα αποικίζεται από διάφορα σημαντικά παθογόνα μικρόβια, όπως ο *S. aureus*, βακτήρια της οικογένειας Enterobacteriaceae και άλλα σημαντικά βακτήρια. Στην εν λόγω έρευνα, έγιναν 3 δειγματοληψίες με βαμβακοφόρο στυλεό από τη ρινική κοιλότητα, από 1878 εθελοντές που δε νοσηλεύονταν σε νοσοκομείο. Οι 3 δειγματοληψίες απείχαν κατά 4-6 μήνες μεταξύ τους. Από τις ρινικές κοιλότητες των εθελοντών, απομονώθηκε *S. aureus* σε ποσοστό 41%, βακτήρια της οικογένειας Enterobacteriaceae σε ποσοστό 33,4% και nonfermenters βακτήρια σε ποσοστό 3,7%. Επίσης, από 13 συμμετέχοντες (0,7%) απομονώθηκε *S. aureus* ανθεκτικός στη μεθικιλίνη (MRSA). Στα άλλα σημαντικά παθογόνα βακτήρια που απομονώθηκαν, περιλαμβάνονταν η *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* και η *Escherichia coli*. Η παρουσία των μικροβίων συσχετίστηκε με διάφορους παράγοντες του τρόπου ζωής και της υγείας των συμμετεχόντων, όπως το μέγεθος του σπιτιού που διαμένουν, τα ταξίδια, ο αριθμός των ζώων που έρχονται σε επαφή και η πυκνότητα των ζώων στην περιοχή που διαμένουν, η ατοπική δερματίτιδα και η πρόσληψη αντικαταθλιπτικών ή αντιβιοτικών φαρμάκων. Τέλος, ιδιαίτερη εντύπωση στην εν λόγω έρευνα προκαλεί η υψηλή συσχέτιση του MRSA με την κατ' επάγγελμα επαφή με ζώα, όπως τους κτηνιάτρους, τους κτηνοτρόφους και τους εργάτες των σφαγίων (Kock et al., 2016). Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνεται και από άλλες μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία, όπου διαπιστώθηκε αξιοσημείωτο ποσοστό ρινικής φορέας αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων σε ανθρώπους που κατ' επάγγελμα έρχονται σε επαφή με ζώα. Πιο συγκεκριμένα, σε μία έρευνα που πραγματοποιήθηκε στην πόλη Botucatu της Βραζιλίας και αφορούσε επαγγελματίες χειριστές τροφίμων, απομονώθηκαν κυρίως αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι από τη ρινική κοιλότητα και τα χέρια τους (Rall et al., 2010).

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Κτηνιατρική Σχολή της Κωνσταντινούπολης και συμπεριλάμβανε κτηνιάτρους και φοιτητές της Κτηνιατρικής Σχολής, απομονώθηκαν αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι ανθεκτικοί στη μεθικιλίνη (MR-CONS) σε ποσοστό ρινικής φορέας 51% (39/89) στους κτηνιάτρους και σε ποσοστό 44,6% (37/83) στους φοιτητές κτηνιατρικής. Ειδικότερα, οι αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι που απομονώθηκαν από τους κτηνιάτρους, ήταν ο *S. epidermidis* (n=33), ο *S. haemolyticus* (n=3), ο *S. hominis* (n=2) και ο *S. lentus* (n=1). Αντίστοιχα, τα είδη CoNS, που απομονώθηκαν από τους φοιτητές κτηνιατρικής ήταν ο *S. epidermidis* (n=26), ο *S. haemolyticus* (n=5), ο *S. cohnii* (n=4) και ο *S. hominis* (n=2) (Yilmaz, Aslantas, Özer, & Yilmaz, 2015).

Σε άλλη έρευνα που έγινε στην Ελβετία το 2011 από τον Huber και τους συνεργάτες του βρέθηκε ότι το 49,3% των δειγμάτων από επαγγελματίες, που ασχολούνταν με

την παραγωγή τροφίμων ζωικής προέλευσης (παραγωγοί, κτηνίατροι και εργάτες σφαγείων) ήταν θετικοί σε MR-CoNS με κυρίαρχα είδη τον *S. epidermidis*, που απομονώθηκε σε ποσοστό 40,3% και τον *S. haemolyticus*, που απομονώθηκε σε ποσοστό 47,5%. Υψηλό ποσοστό ρινικής φορέας, της τάξης του 67,2% και του 60,2% ανθεκτικών στη μεθικιλίνη αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων παρατηρήθηκε σε χοιροτρόφους και σε κτηνιάτρους αντίστοιχα. Η αναλογία για τους εργάτες των σφαγείων ήταν κατά πολύ χαμηλότερη από 26,3%.

Επιπλέον, παρατηρήθηκαν γονίδια που κωδικοποιούν την παραγωγή κλασικών τοξινών, αυξάνοντας το ποσοστό των εντεροτοξινογονικών στελεχών και το παθογόνο δυναμικό εν τέλει. Οι CoNS θεωρούνταν πάντα ένας μολυσματικός παράγοντας των τροφίμων, χωρίς να λαμβάνονται σοβαρά υπόψη. Παρ' όλα αυτά, με την ανακάλυψη της ικανότητάς τους να παράγουν εντεροτοξίνες, η κρισιμότητά τους θα πρέπει να επανεξεταστεί (Γιορμέζης, 2015).

Δεν μας προκαλεί ιδιαίτερη έκπληξη το γεγονός ότι στο 44,4% των συμμετεχόντων ανευρέθηκε *S. aureus*, δεδομένου ότι στη διεθνή βιβλιογραφία θεωρείται το συχνότερο είδος σταφυλόκοκκου και το πιο παθογόνο παράλληλα. Επίσης, σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, δεύτερος σε συχνότητα σταφυλόκοκκος είναι ο αρνητικός στην πηκτάση *S. epidermidis* (Baird-Parker, 1962; Παπαλάμπρου, 1992). Η παρούσα μελέτη συμφωνεί με τη διεθνή βιβλιογραφία ως προς τον *S. aureus*, που απομονώθηκε σε ποσοστό 44,4% από τη ρινική κοιλότητα των συμμετεχόντων. Ωστόσο, δεύτεροι σε συχνότητα απομονωθέντες σταφυλόκοκκοι ήταν ο *S. haemolyticus*, και ο *S. warneri*, σε ποσοστό 13,6%. Βέβαια, στην πλειονότητα των μελετών ο *S. haemolyticus* και ο *S. warneri*, απομονώνονται σταθερά από τις ρινικές κοιλότητες των συμμετεχόντων (Ohara-Nemoto, Haraga, Kimura, & Nemoto, 2008; Rasmussen, Kirkeby, Poulsen, Reinholdt, & Kilian, 2000). Ο *S. epidermidis* απομονώθηκε ως το μόνο είδος σταφυλόκοκκου σε ένα μικρό ποσοστό συμμετεχόντων (2,5%). Αντίθετα, στο σύνολό του, τόσο μεμονωμένος όσο και σε συνδυασμό με άλλους σταφυλόκοκκους, ο *S. epidermidis* απομονώθηκε σε ποσοστό 4,9% στη ρινική κοιλότητα των φοιτητών Κτηνιατρικής. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι μόνο σε μία περίπτωση ο *S. aureus* συνυπήρχε με τον *S. epidermidis* (1,2%). Αυτό ενδεχομένως οφείλεται στο γεγονός της αναστολής του σχηματισμού της βιομεμβράνης του *S. aureus* από τον *S. epidermidis* στη ρινική κοιλότητα των ανθρώπων, όπως έχει αποδειχθεί από μία πρόσφατη έρευνα (Iwase et al., 2010).

Είναι αξιοσημείωτο ότι σε 4 περιπτώσεις φοιτητών κτηνιατρικής, βρέθηκε διπλή ρινική φορεία από αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους (Πίνακας 3). Από τους φοιτητές που ήταν θετικοί σε αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους, το 45,8% είχε *S. haemolyticus*, το 45,8% είχε *S. warneri*, το 16,6% *S. epidermidis*, το 4,2% *S. pasteurii* και το 4,2% *S. capitis*.

Ωστόσο, περιμέναμε να βρούμε πιο πολλά είδη CoNS, όπως *S. hominis* και *S. lugdunensis*, καθώς θεωρούνται από τα πιο κοινά είδη σταφυλόκοκκων, που απομονώνονται από τη ρινική κοιλότητα. (Ohara-Nemoto et al., 2008; Rasmussen et al., 2000). Σε άλλες μελέτες έχει βρεθεί ανάλογη ποικιλομορφία στους CoNS. Σε μία έρευνα των Ohara-Nemoto et al. (2008) απόμονώθηκε ο *S. epidermidis* σε ποσοστό 41,1% και ο *S. hominis*, ο *S. warneri*, *S. intermedius*, *S. capitis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis* and *S. gallinarum*, οι οποίοι ποικίλουν σε αναλογία, ενώ σε έρευνα που έγινε από το Rall και τους συνεργάτες του (2010) απόμονώθηκε ο *S. warneri* σε



ποσοστό 45.1%, ο *S. epidermidis* σε ποσοστό 28%, ο *S. capitis* σε ποσοστό 1,2% και ο *S. xylosus* σε ποσοστό 1,2%.

Ο Abadi και οι συνεργάτες του το 2015 βρήκαν ότι το 71,1% των μαθητών σχολείου στην Ινδία ήταν φορείς CoNS και από αυτούς το 16.7% ήταν φορείς MR-CoNS. Τα είδη των CoNS που απομονώθηκαν ήταν ο *S. lugdunensis* σε ποσοστό 26.1%, ο *S. epidermidis* σε ποσοστό 24.9%, ο *S. haemolyticus* σε ποσοστό 24.4%, ο *S. saprophyticus* σε ποσοστό 13.7%, ο *S. schleiferi* σε ποσοστό 10% και ο *S. simulans* σε ποσοστό 0.9% (Iravani Mohammad Abadi et al., 2015).

Στην εν λόγω εκπόνηση, στην οποία συμμετείχαν 43 άντρες και 38 γυναίκες, το ποσοστό απομόνωσης των αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων, από τις ρινικές κοιλότητες των συμμετεχόντων φοιτητών, δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές ως προς το φύλο ( $p=0,112$ ). Το γεγονός αυτό δεν μπορεί να συγκριθεί με άλλες αναφορές από τη διεθνή βιβλιογραφία, δεδομένου ότι δεν υπάρχουν αντίστοιχες μελέτες για την προδιάθεση αποικισμού των αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων σε σχέση με το φύλο.

Το σύνολο των συμμετεχόντων της μελέτης αφορούσε ενήλικες φοιτητές, που στην πλειονότητά τους ανήκαν στην ηλικιακή ομάδα των 18-22 ετών (54 από τους 81 συμμετέχοντες), ενώ 27 ήταν άνω των 22 ετών. Σύμφωνα με τη στατιστική επεξεργασία, δεν υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στην απομόνωση των αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων από τις ρινικές κοιλότητες των συμμετεχόντων ως προς την ηλικία. Ωστόσο, διατηρείται μια επιφύλαξη στην γενίκευση αυτού του αποτελέσματος σε όλες τις ηλικιακές ομάδες, δεδομένου ότι σύμφωνα με έρευνες η βακτηριακή χλωρίδα της ρινικής κοιλότητας ενδέχεται να παρουσιάζει διαφοροποιήσεις στους ενήλικες, απ' ότι στα παιδιά (Gordts, Halewyck, Pierard, Kaufman, & Clement, 2000).

Όπως ήδη αναφέρθηκε, υπάρχει υψηλή συσχέτιση μεταξύ του σταφυλόκοκκου και των ανθρώπων που κατ' επάγγελμα ασχολούνται με τα ζώα. Αυτό φυσικά δεν είναι δυνατόν να περιοριστεί μόνο στην κατ' επάγγελμα ενασχόληση, καθώς μία πληθώρα ατόμων διαθέτει κατοικίδια. Με άξονα αυτό το γεγονός ο Gomez-Sanz και οι συνεργάτες του πραγματοποίησαν μία έρευνα στην Ισπανία, στην οποία περιλαμβάνονταν 16 υγιείς ιδιοκτήτες και 10 σκύλοι. Σε αυτήν την έρευνα λαμβάνονταν δείγματα από τη ρινική κοιλότητα των υποκειμένων και των σκύλων κάθε 3 μήνες επί 1 χρόνο. Τα αποτελέσματα κατέδειξαν ότι σε όλους τους ιδιοκτήτες απομονώθηκε *S. aureus*, ενώ το ίδιο βακτήριο απομονώθηκε από τη ρινική κοιλότητα μόνο ενός ζώου, στα περιστατικά ανθρωποζωονοτικής μετάδοσης. Σε ένα περιστατικό ζωονοτικής μεταβίβασης, τόσο στον ιδιοκτήτη, όσο και στο σκύλο απομονώθηκε *S. pseudintermedius*, ενώ σε μία περίπτωση έμμεσης ζωονοτικής μεταβίβασης, ο *S. pseudintermedius* παρέμεινε σταθερά στη ρινική κοιλότητα του ιδιοκτήτη. Στο σύνολο των περιστατικών ανευρέθηκε μόνο ένας ανθεκτικός στη μεθικυλλίνη *S. pseudintermedius*. Ο *S. aureus* και ο *S. pseudintermedius* ανευρέθηκαν στη ρινική κοιλότητα 7 (43,8%) και 2 (12,5%) ιδιοκτητών αντίστοιχα, ενώ όσον αφορά τα ζώα, ο *S. aureus* και ο *S. pseudintermedius* ήταν ο μοναδικός σταφυλόκοκκος που αποίκιζε τις ρινικές κοιλότητες 3 ιδιοκτητών και 4 σκύλων. Ο συνδυασμός των δύο σταφυλόκοκκων απομονώθηκε από 1 ιδιοκτήτη και 4 σκύλους. Η εν λόγω έρευνα, καταλήγει στο συμπέρασμα ότι η επαφή των ανθρώπων με

σκύλους θα μπορούσε να παίζει ρόλο στην κατανομή των ειδών του σταφυλόκοκκου (E. Gomez-Sanz, Torres, Ceballos, Lozano, & Zarazaga, 2013).

Η ανωτέρω αναφερόμενη έρευνα, έρχεται σε πλήρη συμφωνία με μία πρότερη, που πραγματοποιήθηκε από τους ίδιους ερευνητές και δημοσιεύτηκε 6 μήνες νωρίτερα, στην οποία συμμετείχαν 67 υγιείς ιδιοκτήτες και 66 υγιή κατοικίδια, προς αξιολόγηση της μετάδοσης των σταφυλόκοκκων ανάμεσα σε διαφορετικά είδη. Ο *S. aureus* ήταν παρόν στο 51,2% των δειγμάτων, ενώ ο *S. pseudintermedius* στο 30,2%. Στη ρινική κοιλότητα 28 ιδιοκτητών (41,8%) ανιχνεύτηκε *S. aureus*. Εξ αυτών, ο ένας ήταν ανθεκτικός στη μεθικιλίνη (MRSA) και οι υπόλοιποι 27 ευαίσθητοι (MSSA). Στη ρινική κοιλότητα 3 ιδιοκτητών ανιχνεύτηκε ευαίσθητος στη μεθικιλίνη *S. pseudintermedius* (Methicillin Susceptible *S. pseudointermedius* -MSSP). Αντίστοιχα, στη ρινική κοιλότητα 15 ζώων (22,7%) ανιχνεύτηκε *S. pseudointermedius*, εξ αυτών σε 2 περιπτώσεις το στέλεχος ήταν ανθεκτικό στη μεθικιλίνη (PRSP) και στις υπόλοιπες 13 ευαίσθητο (PSSP). Επιπλέον, σε 8 κατοικίδια (12,1%) ανιχνεύτηκε MSSA. Σχεδόν το 40% των απομονωθέντων *S. pseudintermedius* ήταν ανθεκτικοί στα περισσότερα αντιβιοτικά (multidrug - resistant), ενώ από τους απομονωθέντες *S. aureus*, ένα αξιοσημείωτα υψηλό ποσοστό περιείχε τοξινογονικά γονίδια. Αντίστοιχα, βρέθηκαν τοξινογονικά γονίδια και σε 3 περιπτώσεις *S. pseudointermedius*. Ταυτόσημα στελέχη από τους ιδιοκτήτες και τα κατοικίδια τους απομονώθηκαν στο 11,6% των περιπτώσεων (5 οικίες), εξ' αυτών στις 4 απομονώθηκαν MSSA και σε 1 περίπτωση MSSP. Η συγκεκριμένη έρευνα, δεδομένης της ανεύρεσης αυτών των βακτηριακών γενών, των τοξινογονικών γονιδίων και της μετάδοσης μεταξύ των ειδών που ανιχνεύτηκε, καταλήγει στο συμπέρασμα ότι η ύπαρξη κατοικίδιου θα μπορούσε να είναι ένας παράγοντας κινδύνου στην απόκτηση, παραμονή και εξάπλωση δυνητικά παθογόνων βακτηρίων (E. Gomez-Sanz, Torres, Lozano, & Zarazaga, 2013).

Η μετάδοση των σταφυλόκοκκων από τα ζώα στον άνθρωπο έχει απασχολήσει αρκετά την επιστήμη τα τελευταία χρόνια και ιδιαίτερα τις ειδικότητες που έρχονται σε καθημερινή επαφή με τα ζώα, όπως τους κτηνιάτρους. Σε έρευνα που περιλάμβανε 128 κτηνιάτρους - δερματολόγους ζώων συντροφιάς, απομονώθηκε ανθεκτικός στη μεθικιλίνη *S. pseudintermedius* (MRSP) σε 5 περιπτώσεις (3,9%) και ανθεκτικός στη μεθικιλίνη *S. aureus* (MRSA) σε 2 περιπτώσεις (1,6%). Στην επανεξέταση των φορέων διαπιστώθηκε ότι ο MRSP παρέμεινε για τουλάχιστον 1 μήνα στη ρινική κοιλότητα των κτηνιάτρων. Στην ίδια έρευνα, αναφέρεται ότι ευαίσθητος στην μεθικιλίνη *S. aureus* (MSSA) απομονώθηκε στο 25% των κτηνιάτρων, ενώ στη ρινική κοιλότητα κανενός υποκειμένου δεν ανιχνεύτηκε ευαίσθητος στη μεθικιλίνη *S. pseudintermedius* (MSSP). Το τελευταίο γεγονός, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το ποσοστό του MSSP στους κτηνιάτρους - δερματολόγους μπορεί να θεωρηθεί χαμηλό (3,9%), στην πραγματικότητα, όμως, είναι αρκετά υψηλότερο του μέσου όρου, δεδομένης της σπάνιας παρουσίας του *S. pseudintermedius* στον άνθρωπο. Με βάση τα αποτελέσματά της, η προαναφερόμενη έρευνα καταλήγει στο συμπέρασμα ότι οι κτηνίατροι βρίσκονται σε κίνδυνο ενζωοτικής μετάδοσης του βακτηρίου και θα πρέπει να λαμβάνουν την κατάλληλη μέριμνα προς αποφυγή της (Paul et al., 2011).

Στα ίδια συμπεράσματα, καταλήγουν και οι μελέτες που αφορούν τη μετάδοση MRSA στους κτηνιάτρους (Garcia-Graells et al., 2012; Loeffler et al., 2010; Wettstein et al., 2014; Wulf et al., 2008). Η φορεία των σταφυλόκοκκων στις ρινικές κοιλότητες των ζώων, είναι κάτι που ομοίως έχει κινήσει το ενδιαφέρον των

ερευνητών. Συγκεκριμένα, οι Wedley και συν., το 2014 πραγματοποίησαν μία εκτεταμένη μελέτη εξετάζοντας δείγματα από τη ρινική κοιλότητα 724 σκύλων, από 87 διαφορετικές κτηνιατρικές κλινικές του Ηνωμένου Βασιλείου. Σύμφωνα με αυτή την έρευνα, σε 399 σκύλους (55,1%) ανιχνεύθηκαν σταφυλόκοκκοι στις ρινικές τους κοιλότητες. Εξ' αυτών, μόλις 7 (1%) ήταν φορείς ανθεκτικού στη MRSA, σε 47 σκύλους (6,5%) ταυτοποιήθηκε MSSA, 40 σκύλοι ήταν φορείς ανθεκτικών στη μεθικιλίνη πηκτάση αρνητικών σταφυλόκοκκων (methicillin resistant coagulase - negative staphylococci - MRCoNS), ενώ σε κανένα ζώο δεν ανευρέθηκε MRSP. Η ανταχή στα αντιβιοτικά διέφερε ανάλογα με το είδος των σταφυλόκοκκων. Σημαντική ανταχή στα αντιβιοτικά εμφάνισαν το 87,5% των MRCoNS και το 21,8% των θετικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων (Wedley et al., 2014). Στην παρούσα μελέτη, το 84,6% των φοιτητών που είχαν κατοικίδιο, βρέθηκαν αρνητικοί στην ανίχνευση σταφυλόκοκκων εντός των ρινικών κοιλοτήτων. Μάλιστα, οι συμμετέχοντες ιδιοκτήτες κατοικίδιων, ήταν σε στατιστικώς χαμηλότερο ποσοστό θετικοί σε κάποιο μικροοργανισμό, σε σύγκριση με τους φοιτητές που δεν είχαν κατοικίδιο. Το γεγονός αυτό, δεν συμφωνεί με τα αποτελέσματα άλλων εργασιών. Συγκεκριμένα, σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Kern και Perreten το 2013, κατά την οποία ελέγχθηκαν δείγματα κατοικίδιων από διάφορες περιοχές του σώματος, απομονώθηκαν αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι σχεδόν από όλες τις περιοχές του σώματος (δέρμα, ουροποιητικό, αυτιά, αναπνευστικό, αρθρώσεις, μάτια και διαπυημένες εστίες). Στους αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους που απομονώθηκαν, περιλαμβάνονταν ο *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. warneri*, *S. capitis* και *S. cohnii*. Βέβαια, αξίζει να σημειωθεί ότι στην εν λόγω μελέτη δεν είχαν ληφθεί δείγματα από τις ρινικές κοιλότητες των κατοικίδιων. Επίσης, έχουν δημοσιευτεί μελέτες που αναφέρουν την πιθανή μεταβίβαση σταφυλόκοκκων από τα ζώα στον άνθρωπο, οι οποίες υποστηρίζουν ότι η επαφή των ανθρώπων με τα ζώα και ιδιαίτερα με σκύλους, θα μπορούσε να παίζει ρόλο στην κατανομή των ειδών του σταφυλόκοκκου (Garcia-Graells et al., 2012; E. Gomez-Sanz et al., 2013; E. Gomez-Sanz et al., 2013; Loeffler et al., 2010; Paul et al., 2011; Wettstein et al., 2014; Wulf et al., 2008).

Στην παρούσα μελέτη βρέθηκε ότι οι συμμετέχοντες που είχαν επισκεφθεί νοσοκομείο το τελευταίο 6μηνο, ήταν σε σημαντικά χαμηλότερο ποσοστό θετικοί σε κάποιο μικροοργανισμό, σε σχέση με τους συμμετέχοντες που δεν επισκέφθηκαν νοσοκομείο τους τελευταίους 6 μήνες. Το γεγονός αυτό, εκ πρώτης όψεως φαίνεται ελαφρώς παράδοξο, δεδομένου ότι οι αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι αποτελούν σημαντικό παράγοντα ενδοноσοκομειακών λοιμώξεων (Γιορμέζης, 2015). Μάλιστα, σύμφωνα με μελέτες φαίνεται ότι ανάμεσα στο ιατρικό προσωπικό και τους ασθενείς των νοσοκομείων, τόσο το ποσοστό των παθογόνων σταφυλόκοκκων στο φάρυγγα και τις ρινικές κοιλότητες, όσο και το ποσοστό των ανθεκτικών στελεχών, αυξάνονται ανάλογα με το χρόνο παραμονής στο νοσοκομείο. Ωστόσο, δεν υπάρχουν αρκετές αναφορές σχετικά με το χρόνο παραμονής των σταφυλόκοκκων στις ρινικές κοιλότητες των ασθενών μετά το εξιτηριό τους. Επί του ζητήματος, ο Goslings και οι συνεργάτες του πραγματοποίησαν έρευνα στο Σικάγο το 1958, η οποία κατέδειξε ότι το σύνολο του πληθυσμού των σταφυλόκοκκων στις ρινικές κοιλότητες και το λάρυγγα των ασθενών, μειώθηκε από το 74% - τη στιγμή του εξιτηρίου - στο 31% 4 εβδομάδες αργότερα. Μετά από αυτό το χρονικό διάστημα το ποσοστό παρέμεινε σταθερό, ανάμεσα στο 31% με 39%, για τις επόμενες εβδομάδες έως την 21 εβδομάδα όπου και ολοκληρώθηκε η έρευνα (Goslings & Buchli, 1958).

Υπό αυτό το πρίσμα, το γεγονός ότι οι συμμετέχοντες που είχαν επισκεφτεί νοσοκομείο τους τελευταίους 6 μήνες δεν βρέθηκαν με αυξημένο πληθυσμό αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων, μάλλον δεν φαντάζει ιδιαίτερα περίεργο εάν η δειγματοληψία των ρινικών κοιλοτήτων πραγματοποιήθηκε μετά τον πρώτο μήνα της επίσκεψής τους.

Το κάπνισμα αποδεδειγμένα μπορεί να επηρεάσει τους αμυντικούς μηχανισμούς του ρινικού βλεννογόνου παραλύοντας τους μηχανισμούς καθαρισμού της ρινικής κοιλότητας και μειώνοντας τους εκκριτικούς παράγοντες (Durmaz, Tekerekoglu, Kascioglu, & Ozturan, 2001). Επίσης, έχει συσχετιστεί από τη διεθνή βιβλιογραφία με οξείες και χρόνιες ρινίτιδες (Benninger, 1999; Reif, Bruns, & Lower, 1998), ενώ υπάρχουν ακόμη έρευνες που υποστηρίζουν την υψηλότερη συχνότητα και σοβαρότητα περιοδοντικών και αναπνευστικών μολύνσεων στους καπνιστές, συγκριτικά με τους μη καπνιστές (Christen, 1992; Nicotra, Rivera, Dale, Shepherd, & Carter, 1995). Επομένως, είναι εύλογη η υπόθεση ότι το κάπνισμα θα μπορούσε να επηρεάσει τη μικροβιακή χλωρίδα των ρινικών κοιλοτήτων.

Η υπόθεση αυτή βρίσκεται σε συμφωνία με την μελέτη της Charlson και των συνεργατών της (2010), που υποστηρίζει ότι η μικροβιακή χλωρίδα του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος στους καπνιστές παρουσιάζει μεγαλύτερη ετερογένεια συγκριτικά με τους μη καπνιστές (Charlson et al., 2010). Παρόλα αυτά, στη δική μας μελέτη η διαφορά της απομόνωσης των αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων στους καπνίζοντες και μη καπνίζοντες είναι στατιστικώς μη σημαντική. Ανατρέχοντας στη διεθνή βιβλιογραφία, διαπιστώθηκε ότι τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης βρίσκονται σε συμφωνία με τη μελέτη των Kaygusuz και συν., κατά την οποία η διαφορά στη μικροβιακή χλωρίδα των καπνιστών σε σχέση με αυτή των μη καπνιστών ήταν στατιστικώς σημαντική σε όλους τους μικροοργανισμούς που απομονώθηκαν, με εξαίρεση τους αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους, των οποίων η απομόνωση δεν παρουσίαζε στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στους καπνίζοντες και μη καπνίζοντες συμμετέχοντες. Σύμφωνα, μάλιστα, με την ίδια μελέτη, και στις δύο ομάδες οι συχνότερα απομονωθέντες αερόβιοι μικροοργανισμοί ήταν οι αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι (Kaygusuz et al., 2004).

Η χρήση αντιβιοτικών για δερματολογικές παθήσεις ή άλλου είδους λοιμώξεις, ενδέχεται να επηρεάζει το μικροβιακό φορτίο και να διαταράσσει την παρουσία διαφόρων φυσιολογικά παρόντων μικροοργανισμών. Όπως αποδεικνύεται από την έρευνα των Marples και συν., η χορήγηση αντιβιοτικών για την καταπολέμηση της ακμής σε 14 συμμετέχοντες οδήγησε στη δραματική μείωση του πληθυσμού του *S. aureus*, ενώ αντισταθμιστικά αύξησε την παρουσία των εντεροβακτηριοειδών (71%) (Marples, Fulton, Leyden, & McGinley, 1969). Η υπόθεση ότι το ίδιο συμβαίνει και στους αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους, δεν επιβεβαιώνεται με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μεταπτυχιακής διπλωματικής διατριβής, ενώ δεν υπάρχει αντίστοιχη έρευνα στη διεθνή βιβλιογραφία με αναφορά στους αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους. Βέβαια, ο χρόνος κατά τον οποίο συνεχίζουν να επηρεάζουν τη μικροβιακή χλωρίδα των ρινικών κοιλοτήτων δεν είναι πλήρως διευκρινισμένος και ενδεχομένως όχι ο ίδιος για όλα τα μικρόβια. Σύμφωνα με την έρευνα του Aly και των συνεργατών του (1970), η χορήγηση κεφαλεξίνης σε υψηλές δόσεις επί 12 ημέρες οδήγησε σε σημαντική μείωση του βακτηριακού πληθυσμού των ρινικών κοιλοτήτων, με τους θετικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους και τα διφθεροειδή βακτήρια να εμφανίζουν τη μεγαλύτερη ευαισθησία. Μάλιστα, στην εν

λόγω μελέτη αναφέρεται ότι 36 ημέρες μετά τη διακοπή της θεραπείας ο απόλυτος αριθμός της βακτηριακής χλωρίδας επανήλθε σχεδόν πλήρως, ωστόσο ο αριθμός των διφθεροειδών μικροβίων δεν επανήλθε και αντικαταστάθηκε αντισταθμιστικά από την αύξηση του πληθυσμού ανθεκτικών αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων. Συγκεκριμένα, η μείωση των διφθεροειδών βακτηρίων και η αύξηση των ανθεκτικών αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων, ακολουθούσαν αντιστρόφως ανάλογη σχέση, η οποία έγινε εμφανής στις ρινικές κοιλότητες της πλειονότητας των συμμετεχόντων (Aly, Maibach, Strauss, & Shinefield, 1970).

Η υπόθεση της επιρροής της μικροβιακής χλωρίδας των ατόμων από συγγενείς με ιατρικά επαγγέλματα φαντάζει λογική, δεδομένης της μεταφοράς μικροβίων από τους ιατρικούς χώρους στους οικιακούς μέσω των αντικειμένων και ιδιαίτερα των κινητών τηλεφώνων. Αυτό επιβεβαιώνεται και επιστημονικά σύμφωνα με μία έρευνα που αναφέρει ότι στο μόλις 16,6% των κινητών τηλεφώνων που ανήκε σε ιατρικό προσωπικό δεν απομονώθηκε κάποιος μικροοργανισμός. Μάλιστα, η ίδια έρευνα αναφέρει ότι το 50,9% του ιατρικού προσωπικού δεν απολυμαίνει το κινητό του μετά την απομάκρυνση από το χώρο εργασίας, επομένως, η βακτηριακή επιμόλυνση των προσωπικών χώρων και της οικίας είναι αρκετά πιθανή. Σημαντικό είναι, επίσης, να αναφερθεί ότι στη συντριπτική πλειοψηφία οι μικροοργανισμοί που απομονώθηκαν από τα κινητά τηλέφωνα του ιατρικού προσωπικού ανήκαν στην οικογένεια των αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων σε ποσοστό 76,5%. Στην παρούσα έρευνα δε βρέθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στους συμμετέχοντες – φορείς αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων που είχαν συγγενή α' βαθμού ιατρό ή μέλος ιατρικού προσωπικού συγκριτικά με τους συμμετέχοντες – φορείς που δεν είχαν. Δεν υπάρχουν άλλες δημοσιευμένες μελέτες που να επιβεβαιώνουν ή να απορρίπτουν την επίδραση του συγγενικού κύκλου με ιατρικά επαγγέλματα στην παρουσία αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων στη ρινική κοιλότητα των ατόμων και το θέμα χρήζει περαιτέρω έρευνας (Brady et al., 2011).

Ως περιορισμός στην παρούσα μελέτη, θα μπορούσε να θεωρηθεί ο μικρός αριθμός δειγμάτων που ελήφθησαν, καθώς η ομάδα που μελετήθηκε απευθυνόταν μόνο σε τεταρτοετείς φοιτητές κτηνιατρικής και όχι σε φοιτητές άλλων ετών ή σε φοιτητές άλλων σχολών (π.χ. Ιατρική Σχολή), ή ακόμη περισσότερο σε επαγγελματίες κτηνιάτρους ή σε άλλους επαγγελματίες υγείας. Ως εκ τούτου, δεν ήταν δυνατό στη μελέτη μας να υπάρξει σύγκριση και συσχετισμός των επαγγελμάτων, των συνθηκών εργασίας κλπ. με τη ρινική φορεία των αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων σε διαφορετικές πληθυσμιακές ομάδες.

Επιπλέον, τα άτομα που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία ήταν ενήλικες και ανήκαν σε παρόμοιες ηλικιακές ομάδες (54 από τους 81 συμμετέχοντες ήταν ηλικίας 18-22 ετών, ενώ 27 ήταν άνω των 22 ετών). Όπως προαναφέρθηκε στην παρούσα μελέτη δεν υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στην απομόνωση των αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων από τις ρινικές κοιλότητες των συμμετεχόντων ως προς την ηλικία. Η μελέτη μας δε συμπεριέλαβε άτομα άλλων ηλικιών, π.χ. παιδιά.

Ως μελλοντική έρευνα, σε συνέχεια του συγκεκριμένου θέματος, προτείνεται να διερευνηθεί εάν υπάρχει προδιάθεση των αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων ως προς το φύλο καθώς ούτε στην παρούσα μελέτη το ποσοστό απομόνωσης των αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων, από τις ρινικές κοιλότητες των

συμμετεχόντων φοιτητών, δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές ως προς το φύλο ( $p=0,112$ ), αλλά και ούτε στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν αντίστοιχες μελέτες.

Θα ήταν ενδιαφέρον να γίνει συγκριτική μελέτη μεταξύ παιδιών και ενηλίκων, δεδομένου ότι η βακτηριακή χλωρίδα της ρινικής κοιλότητας ενδέχεται να παρουσιάζει διαφοροποιήσεις στους ενήλικες, απ' ότι στα παιδιά (Gordts et al., 2000).

Επιπλέον, θα ήταν ενδιαφέρον να διερευνηθεί περισσότερο κατά πόσο η ρινική φορεία στους αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους, επηρεάζεται από τη χορήγηση αντιβιοτικών. Στην παρούσα μελέτη, βρέθηκε ότι το ποσοστό απομόνωσης των αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων δεν ήταν στατιστικά σημαντικό όσον αφορά στη χορήγηση αντιβιοτικών ( $p=0,749$ ) για χρονικό διάστημα κάτω από 3 μήνες και ( $p=0,338$ ) για χρονικό διάστημα κάτω των 6 μηνών). Δεν υπάρχει αντίστοιχη έρευνα στη διεθνή βιβλιογραφία με αναφορά στους αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους.

Θα μπορούσε επίσης να διερευνηθεί, εάν η συγγένεια ενός ατόμου με ένα άλλο άτομο ιατρικού επαγγέλματος έχει επίδραση στην παρουσία των αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων στη ρινική κοιλότητα - δεν υπάρχουν άλλωστε άλλες δημοσιευμένες μελέτες που να μαρτυρούν κατά πόσο επηρεάζει η συγγένεια α' βαθμού με ιατρό, τη ρινική φορεία ατόμων σε αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους. Στην παρούσα έρευνα δε βρέθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στους συμμετέχοντες – φορείς αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων που είχαν συγγενή α' βαθμού ιατρό ή μέλος ιατρικού προσωπικού συγκριτικά με τους συμμετέχοντες – φορείς που δεν είχαν.

## 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά θα μπορούσε να διατυπωθεί ότι:

- Παρόλο που ο στόχος της συγκεκριμένης εργασίας ήταν η διερεύνηση της ρινικής φορείας των αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων στους φοιτητές του τμήματος Κτηνιατρικής του Α.Π.Θ., δε θα μπορούσαμε να μη σχολιάσουμε το γεγονός ότι στο 44,4% των συμμετεχόντων ανευρέθηκε *S. aureus*. Ωστόσο, δε μας προκαλεί ιδιαίτερη έκπληξη το γεγονός αυτό, δεδομένου ότι στη διεθνή βιβλιογραφία θεωρείται το συχνότερο είδος σταφυλόκοκκου και το πιο παθογόνο παράλληλα.
- Παρόλο, που σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, δεύτερος σε συχνότητα απομόνωσης σταφυλόκοκκος είναι ο αρνητικός στην πηκτάση *S. epidermidis* (Baird-Parker, 1962; Παπαλάμπρου, 1992), στη δική μας μελέτη οι δεύτεροι σε συχνότητα ήταν ο *S. haemolyticus* και ο *S. warneri* σε ποσοστό 13,6%. Βέβαια, στην πλειονότητα των μελετών ο *S. haemolyticus* και ο *S. warneri*, αποτελούν χαρακτηριστικά είδη CNS, τα οποία σταθερά απομονώνονται από τις ρινικές κοιλότητες των συμμετεχόντων (Ohara-Nemoto et al., 2008; Rasmussen et al., 2000).
- Ο *S. epidermidis* απομονώθηκε ως το μόνο είδος σταφυλόκοκκου σε ένα μικρό ποσοστό συμμετεχόντων (2,5%). Επίσης, στο σύνολό του, μεμονωμένος και σε συνδυασμό με άλλους σταφυλόκοκκους, απομονώθηκε σε ποσοστό 4,9% στη ρινική κοιλότητα των φοιτητών Κτηνιατρικής.
- Στη μελέτη μας, βρήκαμε ότι η διαφορά της απομόνωσης των αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων στους καπνίζοντες και μη καπνίζοντες είναι στατιστικώς μη σημαντική. Σε συνδυασμό με άλλες παρόμοιες αναφορές θα μπορούσαμε να διακινδυνεύσουμε το συμπέρασμα πως το κάπνισμα δε φαίνεται να επηρεάζει το ποσοστό της ρινικής φορείας όσον αφορά στους αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους.
- Στην παρούσα μεταπτυχιακή διπλωματική διατριβή, βρέθηκε ότι η χορήγηση αντιβιοτικών δεν επηρεάζει τη ρινική φορεία των αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων και λόγω όμως έλλειψης αναφορών αντίστοιχων ερευνών στη διεθνή βιβλιογραφία φαίνεται απαραίτητη μια πλέον εκτεταμένη έρευνα για την εξαγωγή συμπερασμάτων.
- Παρόλο που οι αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι αποτελούν σημαντικό παράγοντα ενδονοσοκομειακών λοιμώξεων (Γιορμέζης, 2015), στη μελέτη μας οι συμμετέχοντες που είχαν επισκεφτεί νοσοκομείο τους τελευταίους 6 μήνες ήταν σε σημαντικά χαμηλότερο ποσοστό θετικοί σε κάποιο μικροοργανισμό, σε σχέση με τους συμμετέχοντες που δεν επισκέφθηκαν νοσοκομείο τους τελευταίους 6 μήνες.

## 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### 7.1. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Γιορμέζης, Ν. (2015). *Διερεύνηση λοιμώξεων πηκτάση-αρνητικά στελέχη του γένους Staphylococcus σε ασθενείς με προσθετικά υλικά*. (Διδακτορική), Πάτρα.
- Δημητρακόπουλος, Γ. Ο. (1987). *Εισαγωγή στη κλινική Μικροβιολογία και τα Λοιμώδη Νοσήματα*: Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδη.
- Μπαρτζάβαλη – Λούκη, Χ. (2003). *Επιδημιολογική μελέτη πολυανθεκτικών στελεχών Staphylococcus που απομονώνονται από ενδονοσοκομειακές λοιμώξεις ασθενών*. (Διδακτορική), Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα
- Ντούτσου, Κ. Ι. (2005). *Διασπορά γονιδίων αντοχής στη μουπιροσίνη σε στελέχη σταφυλόκοκκων*. (Διδακτορική), Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη
- Παπαλάμπρου, Δ. (1992). *Επιδημιολογική μελέτη κοαγκουλάση αρνητικών σταφυλόκοκκων απομονωθέντων από φλεβοκαθετήρες νοσοκομειακών ασθενών*. Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΕΚΠΑ), Αθήνα
- Παπαπαναγιώτου, Ι., & Κυριακοπούλου-Δαλαίνα, Β. (2001). *Σταφυλόκοκκος Ιατρική Μικροβιολογία & Ιολογία* (1η ed.). Θεσσαλονίκη University Studio Press.
- Σαρρής, Κ., Ηλιάδης, Ν., Μπουρτζή-Χατζοπούλου, Ε., & Κουμπάτη-Αρτοποιού, Μ. *Μαθήματα γενικής και ειδικής μικροβιολογίας*. Κτηνιατρική Σχολή Α.Π.Θ.
- Χίνη, Β. Π. (2007). *Εφαρμογή μοριακών μεθόδων ανίχνευσης μηχανισμών αντοχής σε αντιβιοτικά, παραγωγής τοξινών και συσχετισμός κλώνων σε κλινικά στελέχη Staphylococcus aureus*. (Διδακτορική), Πάτρα.

### 7.2. ΑΓΓΛΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Alouf, J. E., & Muller-Alouf, H. (2003). *Staphylococcal and streptococcal superantigens: molecular, biological and clinical aspects*. *Int J Med Microbiol*, 292(7-8), 429-440.
- Aly, R., Maibach, H. I., Strauss, W. G., & Shinefield, H. R. (1970). Effects of a systemic antibiotic on nasal bacterial ecology in man. *Appl Microbiol*, 20(2), 240-244.
- Baird-Parker, A. C. (1962). An improved diagnostic and selective medium for isolating coagulase-positive *Staphylococci*. *J. Appl. Bacteriol.*, 25, 12-19.
- Baird-Parker, A. C. (1963). A classification of *micrococci* and *staphylococci* based on physiological and biochemical tests. *J Gen Microbiol*, 30, 409-427.
- Baird-Parker, A. C. (1965). *Staphylococci* and their classification. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 128, 4-25.
- Baird-Parker, A. C. (1971). The grouping of *staphylococci* and *micrococci*. *J Clin Pathol*, 24(8), 769-770.
- Baird-Parker, A. C. (1974). The basis for the present classification of *staphylococci* and *micrococci*. *Ann N Y Acad Sci*, 236(0), 7-14.
- Bannerman, T. L., Rhoden, D. L., McAllister, S. K., Miller, J. M., & Wilson, L. A. (1997). The source of coagulase-negative *staphylococci* in the Endophthalmitis Vitrectomy Study. A comparison of eyelid and intraocular isolates using pulsed-field gel electrophoresis. *Arch Ophthalmol*, 115(3), 357-361.
- Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. (2014). Coagulase-negative *staphylococci*. *Clin Microbiol Rev*, 27(4), 870-926. doi: 10.1128/CMR.00109-13
- Benninger, M. S. (1999). The impact of cigarette smoking and environmental tobacco smoke on nasal sinus disease: a review of the literature. *Am J Rhinol*, 13, 435-438.
- Bergdoll, M. S., Huang, I. Y., & Schantz, E. J. (1974). Chemistry of the *staphylococcal* enterotoxins. *J Agric Food Chem*, 22(1), 9-13.



- Brady, R. R., Hunt, A. C., Visvanathan, A., Rodrigues, M. A., Graham, C., Rae, C., Gibb, A. P. (2011). Mobile phone technology and hospitalized patients: a cross-sectional surveillance study of bacterial colonization, and patient opinions and behaviours. *Clin Microbiol Infect*, 17(6), 830-835. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03493.x
- Charlson, E. S., Chen, J., Custers-Allen, R., Bittinger, K., Li, H., Sinha, R., Collman, R. G. (2010). Disordered microbial communities in the upper respiratory tract of cigarette smokers. *PLoS One*, 5(12), e15216. doi: 10.1371/journal.pone.0015216
- Chini, V., Petinaki, E., Foka, A., Paratiras, S., Dimitracopoulos, G., & Spiliopoulou, I. (2006). Spread of *Staphylococcus aureus* clinical isolates carrying Panton-Valentine leukocidin genes during a 3-year period in Greece. *Clin Microbiol Infect*, 12(1), 29-34.
- Choi, Y., Kotzin, B., Herron, L., Callahan, J., Marrack, P., & Kappler, J. (1989). Interaction of *Staphylococcus aureus* toxin "superantigens" with human T-cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 86, 8941-8945.
- Christen, A. G. (1992). The impact of tobacco use and cessation on oral and dental diseases and conditions. *Am J Med*, 93, 25-31.
- Clarke, S., & Foster, S. (2006). Surface adhesions of *Staphylococcus aureus*. *Adv Microb Physiol*, 51, 187-224.
- Cone, L., Woodard, D., Schlievert, P., & Tomory, G. (1987). Clinical and bacteriologic observations of a toxic shock-like syndrome due to *Streptococcus pyogenes*. *N Engl J Med*, 317, 146-149.
- Costerton, J. W., Lewandowski, Z., Caldwell, D. E., Korber, D. R., & Lappin-Scott, H. M. (1995). Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol*, 49, 711-745.
- Cribier, B., Prevost, G., Couppie, P., & Piermont, Y. (1992). *Staphylococcus aureus* leucocidin: a new virulence factor in cutaneous infections? An epidemiological and experimental study. *Dermatology*, 185, 175-180.
- Crossley, K. B., & Archer, G. L. (1997a). *The staphylococci in human disease*. New York: Churchill Livingstone.
- Crossley, K. B., & Archer, G. L. (Eds.). (1997b). *The staphylococci in human disease*. New York, USA: Churchill Livingstone.
- Darenberg, J., Soderquist, B., Normark, B. H., & Norrby-Teglund, A. (2004). Differences in potency of intravenous polyspecific immunoglobulin G against streptococcal and staphylococcal superantigens: implications for therapy of toxic shock syndrome. *Clin Infect Dis*, 38(6), 836-842.
- Dinges, M. M., Orwin, P. M., & Schlievert, P. M. (2000). Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev*, 13(1), 16-34, table of contents.
- Duguid, J. P. (1989). *Staphylococcus*: cluster-forming Gram-positive cocci. In D. J. Collee JB, Fraser AG, Marmion BP (Ed.), *Practical Medical Microbiology* (13th ed., pp. 303-316).
- Durmaz, R., Tekerekoglu, M., Kascioglu, T., & Ozturan, O. (2001). Nasal carriage of methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* among smokers and cigarette factory workers. *Microbiologica*, 24, 143-147.
- Duthie, E. S. (1954). The production of free staphylococcal coagulase. *J Gen Microbiol*, 10(3), 437-444.
- Fluit, A. C., & Schmitz, F. J. (2003). *MRSA. Current perspectives*. Wiltshire: Cromwell Press.
- Foster, F., Knight, V., Wenzel, T., & White, A. (1956). Studies on staphylococci from hospital patients: II. Effect of antimicrobial therapy and hospitalization on carrier rates. *Ann N Y Acad Sci*, 65(3), 206-221.
- Foster, T. (1996). *Staphylococcus*. In S. Baron (Ed.), *Medical Microbiology* (4th ed.). Galveston (TX).
- Fraser, J. D., & Proft, T. (2008). The bacterial superantigen and superantigen-like proteins. *Immunol Rev*, 225, 226-243.
- Garcia-Graells, C., Antoine, J., Larsen, J., Catry, B., Skov, R., & Denis, O. (2012). Livestock veterinarian at high risk of acquiring methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398. *Epidemiol. Infect*, 140(3), 383-389.
- Gomez-Sanz, E., Torres, C., Ceballos, S., Lozano, C., & Zarazaga, M. (2013). Clonal dynamics of nasal *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in dog-owning household members. Detection of MSSA ST(398). *PLoS One*, 8(7), e69337.
- Gomez-Sanz, E., Torres, C., Lozano, C., & Zarazaga, M. (2013). High diversity of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* lineages and toxigenic traits in healthy pet-owning household members. Underestimating normal household contact? *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 36(1), 83-94.

- Gordts, F., Halewyck, S., Pierard, D., Kaufman, L., & Clement, P. A. (2000). Microbiology of the middle meatus: a comparison between normal adults and children. *Journal of Laryngology & Otology*, 114(3), 184-188.
- Goslings, W. R., & Buchli, K. (1958). Nasal carrier rate of antibiotic-resistant *staphylococci*; influence of hospitalization on carrier rate in patients, and their household contacts. *AMA Arch Intern Med*, 102(5), 691-715.
- Gouaux, E. (1998). alpha-Hemolysin from *Staphylococcus aureus*: an archetype of beta-barrel, channel-forming toxins. *J Struct Biol*, 121(2), 110-122.
- Gross, M., Cramton, S., Gotz, F., & Peschel, A. (2001). Key role of teichoic acid net change in *Staphylococcus aureus* colonization of artificial surfaces. *Infect. Immun.*, 69(5), 3423-3426.
- Grumann, D., Ruotsalainen, E., Kolata, J., Kuusela, P., Jarvinen, A., Kontinen, V. P., Holtfreter, S. (2011). Characterization of infecting strains and superantigen-neutralizing antibodies in *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Vaccine Immunol*, 18(3), 487-493.
- Holland, L. M., Conlon, B., & O'Gara, J. P. (2011). Mutation of tagO reveals an essential role for wall teichoic acids in *Staphylococcus epidermidis* biofilm development. *Microbiology*, 157(Pt 2), 408-418.
- Iravani Mohammad Abadi, M., Moniri, R., Khorshidi, A., Piroozmand, A., Mousavi, S. G., Dastehgoli, K., & Mirzaei Ghazikalayeh, H. (2015). Molecular Characteristics of Nasal Carriage Methicillin-Resistant Coagulase Negative *Staphylococci* in School Students. *Jundishapur J Microbiol*, 8(6), e18591. doi: 10.5812/jjm.18591v2
- Iwase, T., Uehara, Y., Shinji, H., Tajima, A., Seo, H., Takada, K., Mizunoe, Y. (2010). *Staphylococcus epidermidis* Esp inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and nasal colonization. *Nature*, 465(7296), 346-349.
- Kahler, R., Boyce, J., Bergdoll, M., Lockwood, W., & Taylor, M. (1986). Case report: toxic shock syndrome associated with TTST-1 producing coagulase negative *staphylococci*. *Am J Med Sci*, 292, 310-312.
- Kass, E. H., & Parsonnet, J. (1987). On the pathogenesis of toxic shock syndrome. *Rev Infect Dis*, 9 Suppl 5, S482-489.
- Kaygusuz, I., Kizirgil, A., Karlidag, T., Keles, E., Yalcin, S., Alpay, H. C., & Yildiz, M. (2004). The effect of smoking on nasal microbial flora. *Saglik Bilimler Tip Dergisi*, 18(3), 187-190.
- Kloos, W., & Schleifer, K. (1975). Isolation and characterization of *staphylococci* from human skin. I. Amented Descriptions of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus* and Descriptions of Three New Species: *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus haemolyticus* and *Staphylococcus xylosus*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 25, 50-61.
- Kloos, W., & Schleifer, K. (1975). Isolation and characterization of *staphylococci* from human skin. II. Description of four new species: *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus hominis* and *Staphylococcus simulans*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 25, 62-79.
- Kloos, W. E., & Bannerman, T. L. (1995). *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In P. Murray, E. Baron, N. Pfaller, F. Tenover & R. Tenover (Eds.), *Manual of clinical microbiology* (6th ed., pp. 282-298). Washington DC: ASM Press.
- Kloos, W. E., & Schleifer, K. H. (1975). Simplified scheme for routine identification of human *Staphylococcus* species. *J Clin Microbiol*, 1(1), 82-88.
- Kock, R., Werner, P., Friedrich, A. W., Fegeler, C., Becker, K., Prevalence of Multiresistant Microorganisms Study, G., & Prevalence of Multiresistant Microorganisms, P. M. M. S. G. (2016). Persistence of nasal colonization with human pathogenic bacteria and associated antimicrobial resistance in the German general population. *New Microbes New Infect*, 9, 24-34.
- Kolle, W., & Otto, R. (1902). Die Differenzierung der *Staphylokokken* mittelst der Agglutination. *Zeitschrift f. Hyg.*, 41, 369-379.
- Krakauer, T. (2013). Update on *staphylococcal* superantigen-induced signaling pathways and therapeutic interventions. *Toxins*, 5(9), 1629-1654.
- Ladhani, S. (2003). Understanding the mechanism of action of the exfoliative toxins of *Staphylococcus aureus*. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 39(2), 181-189.
- Lay, J. O., Jr. (2001). MALDI-TOF mass spectrometry of bacteria. *Mass Spectrom Rev*, 20(4), 172-194.
- Leclercq, R. (2009). Epidemiology and resistance issues in multidrug-resistance *staphylococci* and *enterococci*. *Clinical Microbiology and Infection*, 15, 224-231.

- Linke, D., & Goldman, A. (2011). *Bacterial Adhesion Chemistry, Biology and Physics*. New York: Springer Science & Business Media.
- Loeb, L. (1903). The Influence of certain Bacteria on the Coagulation of the Blood. *J Med Res*, 10(3), 407-419.
- Loeffler, A., Pfeiffer, D., Lloyd, D., Smith, H., Soares-Magalhaes, R., & Lindsay, J. (2010). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage in UK veterinary staff and owners of infected pets: new risk groups. *J Hosp Infect*, 74(3), 282-288.
- Mack, D., Rohde, H., Harris, L. G., Davies, A. P., Horstkotte, M. A., & Knobloch, J. K. (2006). Biofilm formation in medical device-related infection. *Int J Artif Organs*, 29(4), 343-359.
- Maiden, M. C. (2006). Multilocus sequence typing of bacteria. *Annu Rev Microbiol*, 60, 561-588. doi: 10.1146/annurev.micro.59.030804.121325
- Maiden, M. C., Bygraves, J. A., Feil, E., Morelli, G., Russell, J. E., Urwin, R., Spratt, B. G. (1998). Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proc Natl Acad Sci*, 95(6), 3140-3145.
- Marples, R. R., Fulton, J. E., Leyden, J., & McGinley, K. J. (1969). Effect of antibiotics on the nasal flora in acne patients. *Arch Dermatol*, 99(6), 647-651.
- Melish, M. E., Glasgow, L. A., & Turner, M. D. (1972). The *staphylococcal* scalded-skin syndrome: isolation and partial characterization of the exfoliative toxin. *J Infect Dis*, 125(2), 129-140.
- Menestrina, G., Serra, M. D., & Prevost, G. (2001). Mode of action of beta-barrel pore-forming toxins of the *staphylococcal* alpha-hemolysin family. *Toxicon*, 39(11), 1661-1672.
- Morinaga, N., Kaihou, Y., & Noda, M. (2003). Purification, cloning and characterization of variant LukE-LukD with strong leukocidal activity of *staphylococcal* bi-component leukotoxin family. *Microbiol Immunol*, 47(1), 81-90.
- Musser, J. M., & Kapur, V. (1992). Clonal analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from intercontinental sources: association of the *mec* gene with divergent phylogenetic lineages implies dissemination by horizontal transfer and recombination. *J Clin Microbiol*, 30(8), 2058-2063.
- Nicotra, M. B., Rivera, M., Dale, A. M., Shepherd, R., & Carter, R. (1995). Clinical, pathophysiologic, and microbiologic characterization of bronchiectasis in an aging cohort. *Chest*, 108(4), 955-961.
- Ogston, A. (1882). *Micrococcus* Poisoning. *J Anat Physiol*, 16(Pt 4), 24-58.
- Ohara-Nemoto, Y., Haraga, H., Kimura, S., & Nemoto, T. K. (2008). Occurrence of *staphylococci* in the oral cavities of healthy adults and nasal oral trafficking of the bacteria. *J Med Microbiol*, 57(Pt 1), 95-99. doi: 10.1099/jmm.0.47561-0
- Parsonnet, J., Hickman, R. K., Eardley, D. D., & Pier, G. B. (1985). Induction of human interleukin-1 by toxic-shock-syndrome toxin-1. *J Infect Dis*, 151(3), 514-522.
- Paul, N. C., Moodley, A., Ghibaud, G., & Guardabassi, L. (2011). Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudointermedius* in small animal veterinarians: indirect evidence of zoonotic transmission. *Zoonoses Public Health*, 58(8), 533-539.
- Rall, V. L., Sforzin, J. M., Augustini, V. C., Watanabe, M. T., Fernandes, A., Jr., Rall, R., Araujo, J. P., Jr. (2010). Detection of enterotoxin genes of *Staphylococcus* SP isolated from nasal cavities and hands of food handlers. *Braz J Microbiol*, 41(1), 59-65. doi: 10.1590/S1517-838220100001000011
- Rasmussen, T. T., Kirkeby, L. P., Poulsen, K., Reinholdt, J., & Kilian, M. (2000). Resident aerobic microbiota of the adult human nasal cavity. *APMIS*, 108(10), 663-675.
- Reif, J. S., Bruns, C., & Lower, K. S. (1998). Cancer of the nasal cavity and paranasal sinuses and exposure to environmental tobacco smoke in pet dogs. *Am J Epidemiol*, 147(5), 488-492.
- Rogolsky, M. (1979). Nonenteric toxins of *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Rev*, 43(3), 320-360.
- Rupp, M. E., & Archer, G. L. (1994). Coagulase-negative *staphylococci*: pathogens associated with medical progress. *Clin Infect Dis*, 19(2), 231-243; quiz 244-235.
- Sabat, A. J., Budimir, A., Nashev, D., Sa-Leao, R., van Dijk, J., Laurent, F., Markers, E. S. G. o. E. (2013). Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance. *Euro Surveill*, 18(4), 20380.
- Sasaki, T., Tsubakishita, S., Tanaka, Y., Sakusabe, A., Ohtsuka, M., Hirotsuki, S., Hiramatsu, K. (2010). Multiplex-PCR method for species identification of coagulase-positive *staphylococci*. *J Clin Microbiol*, 48(3), 765-769.

- Sato, H., Matsumori, Y., Tanabe, T., Saito, H., Shimizu, A., & Kawano, J. (1994). A new type of *staphylococcal* exfoliative toxin from a *Staphylococcus aureus* strain isolated from a horse with phlegmon. *Infect Immun*, 62(9), 3780-3785.
- Sato, H., Tanabe, T., Kuramoto, M., Tanaka, K., Hashimoto, T., & Saito, H. (1991). Isolation of exfoliative toxin from *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* and its exfoliative activity in the piglet. *Vet Microbiol*, 27(3-4), 263-275.
- Talan, D., Staatz, D., Goldstein, E., Singer, K., & Overturf, G. (1989). *Staphylococcus intermedius* in canine gingival and canine-inflicted human wound infections: laboratory characterization of a newly recognized zoonotic pathogen. *J Clin Microbiol*, 27(1), 78-81.
- Tenover, F. C., Arbeit, R., Archer, G., Biddle, J., Byrne, S., Goering, R., et al. (1994). Comparison of traditional and molecular methods of typing isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, 32(2), 407-415.
- Todd, J., Fishaut, M., Kapral, F., & Welch, T. (1978). Toxic-shock syndrome associated with phage-group-I *Staphylococci*. *Lancet*, 2(8100), 1116-1118.
- Towbin, H., T. Staehelin and J. Gordon. (1992). Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. 1979. *Biotechnology*, 24, 145-149.
- Trulzsch, K., Rinder, H., Trcek, J., Bader, L., Wilhelm, U., & Heesemann, J. (2002). "*Staphylococcus pettenkoferi*," a novel *staphylococcal* species isolated from clinical specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 43(3), 175-182.
- Vadyvaloo, V., & Otto, M. (2005). Molecular genetics of *Staphylococcus epidermidis* biofilms on indwelling medical devices. *Int J Artif Organs*, 28(11), 1069-1078.
- van Belkum, A., Bax, R., Peerbooms, P., Goessens, W. H., van Leeuwen, N., & Quint, W. G. (1993). Comparison of phage typing and DNA fingerprinting by polymerase chain reaction for discrimination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *J Clin Microbiol*, 31(4), 798-803.
- Von Eiff, C., Friedrich, A. W., Peters, G., & Becker, K. (2004). Prevalence of genes encoding for members of the *staphylococcal* leukotoxin family among clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 49(3), 157-162.
- Waldvogel, F. (1990). *Staphylococcus aureus* (including toxic shock syndrome). In D. Mandell, Bennett (Ed.), *Principles and Practice of Infectious Diseases*. (3rd ed., pp. 1489-1510).
- Walston, H. D. (1935). The clotting plasma through *staphylococci* and their products. *J. Hyg. Camb.*, 35, 459.
- Wedley, A. L., Dawson, S., Maddox, T. W., Coyne, K. P., Pinchbeck, G. L., Clegg, P., Williams, N. J. (2014). Carriage of *Staphylococcus* species in the veterinary visiting dog population in mainland UK: molecular characterisation of resistance and virulence. *Vet Microbiol*, 170(1-2), 81-88.
- Weidenmaier, C., & Peschel, A. (2008). Teichoic acids and relates cell-wall glycopolymers in Gram-positive physiology and host interactions. *Nat Rev Microbiol*, 6(4), 276-287.
- Wettstein, R., K., Rothenanger, E., Brodard, I., Collaud, A., Overesch, G., Bigler, B., Perreten, V. (2014). Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among Swiss veterinary health care providers: detection of livestock- and healthcare-associated clones. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 156(7), 317-325.
- Wildemauwe, C., Godard, C., Verschraegen, G., Claey's, G., Duyck, M. C., De Beenhouwer, H., & Vanhoof, R. (2004). Ten years phage-typing of Belgian clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates (1992-2001). *J Hosp Infect*, 56(1), 16-21.
- Wilson, T. S., & Stuart, R. D. (1965). *Staphylococcus Albus* in Wound Infection and in Septicemia. *Can Med Assoc J*, 93, 8-16.
- Wulf, M. W., Sorum, M., Van Nes, A., Skov, R., Melchers, W. J., Klaassen, C. H., & Voss, A. (2008). Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among veterinarians: an international study. *Clin Microbiol. Infect.*, 14(1), 29-34.
- Yilmaz, M. A., Aslantas, Ö., Özer, B., & Yilmaz, E. Ş. (2015). Nasal carriage of Methicillin- Resistant Coagulase Negative *Staphylococci*(MR-CoNS)Among Veterinarians and Veterinary Students. *J. Fac. Vet. Med. Istanbul Univ*, 41(1), 69-78.

### **7.3. INTERNET**

World Health Organization (2016). Antimicrobial resistance. Updated September 2016 from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>

## 8. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

<b>Ερωτηματολόγιο Προσδιορισμού Συσχετιζόμενων Παραγόντων με την ανίχνευση στελεχών MSSA &amp; MRSA</b>					<b>Αριθμός Δείγματος</b>			
<b>1.Φύλο</b>					<b>12. Χειρουργική επέμβαση(&lt;1έτος)</b>			
Άρρεν	Θήλυ			NAI	OX I	Είδος		
<b>2.Ηλικία</b>					<b>13.Χρήση αντιβιοτικών(&lt;3μήνες)</b>			
18-20	20-22	22-24	>24		OX I	Είδος		
<b>3.Χρονιά Εισαγωγής στην Κτηνιατρική Σχολή</b>					<b>14.Χρήση αντιβιοτικών(&lt;6μήνες)</b>			
Έτος				NAI	OX I	Είδος		
<b>4.Έναρξη Παρακολούθησης Κλινικών Μαθημάτων</b>					<b>15. Κάπνισμα</b>			
NAI	OXI	Πόσο καιρό πριν			NAI	OX I	Τακτικά	Περιστασιακά
<b>5.Υπαρξη κατοικίδιου ζώου στο σπίτι</b>					<b>16. Υπαρξη γνωστής υποκείμενης αναπνευστικής νόσου</b>			
NAI	OXI	Είδος			NAI	OX I	Είδος	
<b>6.Προηγούμενη επίσκεψη σε νοσοκομείο</b>					<b>17. Υπαρξη άλλης γνωστής υποκείμενης νόσου</b>			

(<6μήνες)					
NAI	OXI	Πόσες φορές	NAI	OX I	
<b>7.Προηγούμενη επίσκεψη σε ΜΕΘ (&lt;6μήνες)</b>			<b>18. Ύπαρξη δερματικής νόσου/ λοίμωξης (&lt;6μήνες)</b>		
NAI	OXI	Πόσες φορές	NAI	OX I	
<b>8.Προηγούμενη νοσηλεία σε νοσοκομείο (&lt;6μήνες)</b>			<b>ΕΥΧΑΡΙΣΤΟΥΜΕ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ</b>		
NAI	OXI	Χρόνος Παραμονής			
<b>9.Άλλη προηγούμενη νοσηλεία σε νοσοκομείο(&lt;1 έτος)</b>			<b>Ο αριθμός δείγματος <u>δεν μπορεί</u> να συσχετιστεί καθ' οιοδήποτε τρόπο με τα στοιχεία ταυτότητας του συμμετέχοντα στην έρευνα</b>		
NAI	OXI	Χρόνος Παραμονής			
<b>10.Προηγούμενη νοσηλεία σε ΜΕΘ (&lt;6μήνες)</b>			<b>Η συμπλήρωση του παρόντος ερωτηματολογίου, στο σύνολό του ή μερικώς, είναι ΠΡΟΑΙΡΕΤΙΚΗ και έχει αποκλειστικό στόχο την άντληση χρήσιμων πληροφοριών σχετικών με το ιστορικό των συμμετεχόντων στην έρευνα.</b>		
NAI	OXI	Χρόνος Παραμονής			
<b>11.Συγγενής α' βαθμού ιατρός ή ιατρικό προσωπικό</b>			<b>Συναινώ στη συλλογή &amp; επεξεργασία των απαντήσεων για τη διεξαγωγή της παρούσας επιστημονικής έρευνας</b>		
NAI	OXI	Ειδικότητα			
			NAI		OXI